

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

L'AUTOLYSE

(ÉTUDE DE BIOLOGIE GÉNÉRALE)

par M. NICOLLE.

Nous désirions, depuis longtemps, présenter quelques vues personnelles touchant l'autolyse. La publication des mémoires ci-joints de nos amis Alilaire et Salimbeni nous y conduit aujourd'hui.

AUTOLYSE ET RAMOLLISSEMENT CELLULAIRE.

Toute cellule, privée d'aliments, vit un certain temps sur ses réserves, puis meurt. Avant et encore après la mort, se manifestent des transformations importantes, facilement appréciables lorsque les cellules sont « amenées à l'échelle des sens » par leur agglomération : tissus animaux et végétaux, masses microbiennes.

Ce qui frappe d'abord, c'est le *ramollissement*, la tendance vers une fluidification plus ou moins complète. Thénard, Pasteur, Schutzenberger l'ont vu et décrit, chez la levure isolée de son milieu nutritif. L'aspect de cette levure en *autophagie* (en autolyse, comme on dit depuis Jacoby) ne diffère pas essentiellement de l'aspect des territoires cérébraux en voie de ramollissement, par suite d'oblitération vasculaire : cause première identique, résultats analogues. Ce rapprochement montre combien est vaste le domaine de l'autolyse.

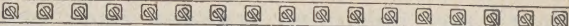
Il faut dire, de suite, que si l'autophagie engendre toujours une « fonte » d'intensité variable, beaucoup d'autres facteurs peuvent diminuer la consistance normale des amas cellulaires. Ces facteurs conduisant fatalement à l'autolyse (lorsque des effets secondaires ou des causés compensatrices ne s'y opposent pas), il importe de bien distinguer le ramollissement et l'autolyse, phénomènes de nature différente, mais qui se succèdent régulièrement dans les circonstances habituelles.

Examinons, de nouveau, la levure. Que l'on brise les cellules par la pression, le broyage, le gel et le dégel (Buchner, Borrel, Alilaire) ou tout autre moyen d'efficacité semblable, on obtient, constamment, une masse semi-fluide, destinée à subir l'autophagie. Le mélange de la levure avec les solutions sucrées et salines concentrées (Dumas), mieux encore avec les sucres et les sels en nature (Béchamp), provoque instantanément la liquéfaction. On peut aussi employer l'urée et l'uréthane cristallisés, comme nous l'avons fait soit pour la levure, soit pour des cellules très diverses, notamment les cellules bactériennes. Toujours, on observe un ramollissement obligé, suivi d'autolyse quand des facteurs surajoutés n'interviennent point. Mentionnons, en passant, que la levure se fluidifie dès qu'on la mêle au staphylocoque doré, résultat assez inattendu. Les actions dont nous venons de parler sont d'une extrême brutalité; plus ménagées, elle ne permettraient que l'issue de l'eau hors des cellules et celles-ci subiraient uniquement la plasmolyse.

Les vapeurs anesthésiques liquéfient aisément la levure. Comme il s'agit de composés miscibles aux matières grasses, on admet unanimement, aujourd'hui, qu'elles désagrègent la substance vivante en s'attaquant à ses constituants « lipoides ».

D'une façon générale, toute dislocation cellulaire, quelles que soient ses causes, quel que soit son mécanisme, constitue un facteur de ramollissement et tout ramollissement incline plus ou moins la cellule vers l'autolyse. Inversement, l'autolyse par inanition amène la dislocation du complexe organisé et, partant, le ramollissement de celui-ci. Il est facile, maintenant, de deviner que si, à la privation d'aliments, on surajoute des facteurs de cytomalacie, les phénomènes évolueront avec une remarquable intensité. C'est ce qui se trouve réalisé, par

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120 — PARIS (VI^e ARR.)

PR. N^o 717  1912

Vient de Paraître :

L'ALCOOL

ÉTUDE ÉCONOMIQUE GÉNÉRALE

SES RAPPORTS AVEC L'AGRICULTURE,
L'INDUSTRIE, LE COMMERCE, LA LÉGISLA-
TION, L'IMPOT, L'HYGIÈNE INDIVIDUELLE
ET SOCIALE

PAR

LOUIS JACQUET

Ingénieur des Arts et Manufactures.

PRÉFACE DE M. G. CLEMENCEAU

1 volume grand in-8°, de xviii-945 pages, avec 43 figures dans le texte,
13 graphiques et 138 tableaux 17 fr.

.....Toutes ces questions sont traitées dans le présent volume avec autant de précision que de méthode et de clarté.

Avec sa forte et consciencieuse documentation, le livre de M. Jacquet est, sans aucun doute, l'étude la plus complète qui ait été faite sur l'alcool jusqu'à ce jour. Il se recommande ainsi non seulement aux économistes, aux hygiénistes et aux sociologues, mais, d'une façon générale, à tous ceux qui voudraient étudier dans le détail l'importante question de l'alcool.....

(Extrait de la préface de M. G. Clemenceau.)

Afin de permettre au lecteur de se rendre compte de la multiplicité des questions traitées dans cet ouvrage, nous croyons utile de reproduire ci-dessous un important extrait de la table des matières de ce volume.

Extrait de la Table des Matières

PREFACE de M. G. Clemenceau	1 à xi
---------------------------------------	--------

CHAPITRE PREMIER

Notice historique. L'alcool autrefois. Son évolution.

Les boissons alcooliques dans l'antiquité. — Historique de la découverte de l'alcool. — Aperçu rétrospectif des origines de la distillation et de son outillage. — Les premiers alambics. — L'eau-de-vie et l'alcool depuis le xvii ^e siècle. — Progrès et développements de l'industrie de la distillation. . .	1
---	---

CHAPITRE II

Propriétés générales et sources de l'alcool.

Définition scientifique du terme « alcool ». — Alcool éthylique. Généralités. — Propriétés physiques et chimiques. — Notions théoriques sur la formation de l'alcool. Sucres. — Fermentation alcoolique. Equations de Lavoisier et de Gay-Lussac. — Levures.	26
Substances alcooligènes. I. Matières sucrées. — II. Matières saccharigènes. Substances amylacées. — Substances cellulosiques. — Principes alcooligènes d'origine animale. — Rendement en alcool des matières alcooligènes. — Alcools de fermentation. Alcools de distillation. — Classification des alcools d'après leur origine: alcools naturels et alcools d'industrie, alcools de consommation. — Alcool par synthèse ou alcool chimique. — Alcool méthylique. — Alcool pur. — Alcool absolu	40

CHAPITRE III

L'alcool et l'agriculture.

L'alcool, produit du sol. — Alcools naturels. Cultures fournissant la matière première de ces alcools. Régions et étendues de ces cultures. — Evaluation moyenne pour les années 1907-1908-1909, des produits agricoles employés à	
--	--

la fabrication des alcools naturels. — Alcools d'industrie. Culture de la matière première. Régions, étendue, valeur. — Alcools de fermentation. Leur valeur agricole. — Valeur agricole totale des diverses boissons alcooliques. — Crises viticoles. Causes directes et indirectes. — Influence de la distillation des vins. — Conclusions relatives à la crise viticole. Causes et remèdes. — La betterave et la vigne. Le Nord et le Midi. Dissentiments économiques entre ces deux régions. Violentes oppositions d'intérêts. L'accord est-il possible? — La distillerie agricole. Ses origines. Son évolution. Développement enrayé par la législation. Ses avantages pour l'élevage du bétail. 56
Le privilège des bouilleurs de cru : Définition. Généralités. — Le privilège et l'agriculture. 104

CHAPITRE IV

L'industrie de l'alcool.

L'alcool d'industrie en France. Ses origines. Régions de production. Distilleries industrielles. — Evolution de la matière première alcoolisable. Production annuelle des alcools d'industrie, par nature de substances mises en œuvre, de 1840-1910 124
Les alcools d'industrie de fabrication courante. Travail des matières premières. — 1° La betterave; 2° Les mélasses; 3° Les grains; 4° La pomme de terre; 5° Le topinambour. 131
Transformation en alcool des moûts fermentés. Distillation, rectification, épuration. Procédés anciens et nouveaux. — Distillation. — Rectification. — Composition des alcools d'industrie. Leur degré de pureté. Alcool-type de la Bourse de commerce. — Cours de l'alcool. Ses variations. Leurs causes. La spéculation. — Prix de revient de l'alcool. Prix de vente. — Taxe de fabrication sur les alcools d'origine industrielle. — Les débouchés de l'alcool d'industrie. — L'alcool d'industrie et sa valeur économique. 141
L'alcool d'industrie à l'étranger. Principaux pays producteurs. — Russie. — Allemagne. — Royaume-Uni. — Autriche-Hongrie. — Pays-Bas. — Belgique. — Roumanie. — Suède. — Danemark. — Norvège. — Autres pays. — Utilisation des résidus et déchets des distilleries industrielles. 166

CHAPITRE V

Le commerce de l'alcool en France.

Les divers alcools de consommation en France et aux colonies. — Les eaux-de-vie des Charentes. Crus divers, leur délimitation légale. — La dénomination « cognac ». Sa valeur au point de vue international. — Aperçu historique du commerce de Cognac. Evolution. Etat actuel. Importance. — La crise phylloxérique dans les Charentes. Conséquences pour la propriété et le commerce. — La fabrication des eaux-de-vie de Cognac. Production. — Exportation des eaux-de-vie de vin françaises en Angleterre et autres pays. Evaluation. — Valeur des eaux-de-vie des Charentes, autrefois et aujourd'hui. Prix de revient actuel. Plus-value due au vieillissement. Les eaux-de-vie d'Armagnac. Régions et crus. Délimitation légale. — Les alcools et eaux-de-

vie du Midi. Production. Prix et cours. — Alcools de vin rectifiés. — Eaux-de-vie de cidre et de poires. Production. Prix. — Eaux-de-vie de fruits ; cerises, prunes, etc. — Kirschs. — Genièvres.	181
<i>Alcools de mélange et spiritueux divers.</i> — Eaux-de-vie communes. Dénominations. — Kirschs et rhums communs. — Prix de revient des eaux-de-vie, rhums et kirschs ordinaires. — Liqueurs. — Les liqueurs françaises. Exportation. — Amers, bitters et similaires. — Absinthes. — Fruits à l'eau-de-vie. — Eaux de senteur, parfumeries diverses. — Spiritueux d'importation. Rhums et tafias. — Prix des rhums d'origine. — Alcools importés et exportés, de 1850 à 1911. — Tarif douanier français pour les spiritueux. — Etat actuel du commerce des spiritueux en France. Son importance. Commerce intérieur et extérieur.	233
<i>Les intéressés au commerce des spiritueux.</i> — Le privilège des bouilleurs de cru et le commerce des spiritueux. — La loi des fraudes du 1 ^{er} août 1905. — Ses conséquences pour le commerce des spiritueux. — Le Congrès de la Croix-Blanche ou de l'aliment pur. — Valeur scientifique des analyses de spiritueux. Degré d'exactitude de leurs conclusions. — Le commerce des spiritueux en face de la législation actuelle. Ses desiderata	260

CHAPITRE VI

Le commerce de l'alcool à l'étranger.

<i>Les alcools de consommation dans les différents pays : I. Pays européens :</i> <i>Allemagne :</i> Production des spiritueux. Importation et exportation. Tarif douanier. Commerce intérieur. — <i>Angleterre :</i> Les spiritueux anglais. Commerce intérieur et extérieur. Tarif douanier. — <i>Russie :</i> Production. Commerce intérieur. Les spiritueux. Importation. Tarif douanier. — <i>Autriche :</i> Production des spiritueux. Tarif douanier. — <i>Pays-Bas :</i> Production. Commerce extérieur. Tarif douanier. — <i>Belgique :</i> Production. Consommation. Commerce extérieur des spiritueux. Décrets relatifs à la composition et aux fraudes. Tarif douanier. — <i>Italie.</i> — <i>Suède.</i> — <i>Danemark.</i> — <i>Suisse.</i> — <i>Norvège.</i> — <i>Espagne.</i> — <i>Portugal.</i> — <i>Grèce.</i> — <i>Roumanie.</i> — <i>Serbie.</i> — <i>Eulgarie.</i> — <i>Turquie.</i> — Les tarifs douaniers européens et les spiritueux français	295
Nomenclature des spiritueux étrangers ; tarifs douaniers appliqués aux spiritueux français dans les divers pays d'Europe	340
<i>II. Pays extra-européens.</i> — <i>Etats-Unis :</i> Production. Commerce extérieur. Importation. Loi des fraudes américaines. Tarif douanier américain. — <i>Canada (Dominion) :</i> Production, importation. Tarif douanier canadien. — <i>Australie (Commonwealth) :</i> Production, commerce extérieur. Législation. Tarif douanier. — <i>Mexique :</i> Production et importation. Tarif douanier. — <i>République Argentine :</i> Production et importation. Tarif douanier. — Nomenclature des spiritueux étrangers et des tarifs douaniers appliqués aux spiritueux français dans les autres pays extra-européens. — Les boissons alcooliques chez les peuples primitifs et sauvages. — Le régime d'importation des spiritueux en Afrique. — Convention de Bruxelles	346

CHAPITRE VII

Législation et régime fiscal de l'alcool en France et aux Colonies.

Considérations générales sur l'impôt. L'impôt indirect	389
Historique de la législation des spiritueux avant 1816.	391
<i>Exposé du régime actuel de l'alcool en France.</i> — Catégories des spiritueux et des taxes. — Marchands en gros et entrepositaires. — Producteurs d'alcool. — Débitants et marchands de boissons en détail. — Réglementation des alambics. Fabrication. Vente. Détention. Circulation. — Contraventions et peines. — Transactions. — Le privilège des bouilleurs de cru au point de vue fiscal. Son histoire. Ce qu'il est aujourd'hui. Conséquences fiscales du privilège. La fraude. Préjudice causé au Trésor. — Les fraudes générales en matière d'alcool. — Les taxes d'octroi. — Octroi de banlieue. — L'impôt de la licence. — Les assujettis en matière de boisson. — Rendement de l'impôt de l'alcool. Son évolution, son maximum. — Les conséquences pour le Trésor public, de la législation fiscale, depuis 1900. — Importance des boissons alcooliques dans le rendement comparé des divers impôts. — Conclusions. Modifications au régime de l'alcool en France. — Les intérêts antagonistes : Nord. Midi. — Commerce. Trésor public. — Le régime de l'alcool en Corse .	417
<i>Le régime de l'alcool aux colonies françaises</i>	492

CHAPITRE VIII

La législation de l'alcool à l'étranger. Généralités.

<i>Législation allemande.</i> — Loi de 1887. — Législation actuelle. Loi du 15 juillet 1909. — I. Production de l'alcool. — II. L'impôt de l'alcool. — III. Péna- lités. — <i>Législation anglaise.</i> — Législation actuelle. — <i>Autriche-Hongrie.</i> — <i>Belgique.</i> — <i>Italie.</i> — <i>Espagne.</i> — <i>Pays-Bas.</i> — <i>Danemark.</i> — <i>Suède et</i> <i>Norvège.</i> — <i>Russie.</i> — <i>Suisse.</i> — Comparaison de l'impôt de l'alcool dans les différents pays d'Europe. — Les bouilleurs de cru à l'étranger	504
<i>L'alcoométrie officielle dans les différents pays.</i> — Alcoomètre centésimal de Gay- Lussac. Alcoomètre de Cartier. Alcoomètre de Tessa. Alcoomètre de Tralles. Hydromètre de Sykes	578

CHAPITRE IX

Le monopole de l'alcool en France et à l'étranger.

<i>Les monopoles d'Etat.</i> Considérations économiques. — Les monopoles en France. — L'Etat industriel et commerçant. — La question du monopole de l'alcool en France. Son principe. Son évolution.	588
<i>Les arguments du monopole.</i> — I. Arguments d'ordre hygiénique. — II. Argu- ments d'ordre fiscal. — III. Arguments d'ordre économique.	599
<i>Les diverses formes du monopole :</i> 1 ^o Monopole intégral; 2 ^o Monopole général de fabrication; 3 ^o Monopole de fabrication limité aux alcools d'industrie; 4 ^o Monopole de rectification; 5 ^o Monopole de vente, Avantages et bénéfices	

éventuels du monopole de la vente de l'alcool; 6° Les monopoles combinés;	
7° Le monopole de la dénaturation. — Les indemnités du monopole	609
<i>Les projets de lois sur le monopole de l'alcool.</i> — Le projet Jaurès. — Le projet Astier. — Le projet Maujan. — Le projet Alglave-Martin. — Discussion de la proposition Martin-Alglave	629
<i>Les monopoles de l'alcool à l'étranger.</i> — Le monopole en Suisse. — Le monopole en Russie. — Fonctionnement du monopole russe.	651

CHAPITRE X

L'alcool au point de vue de l'hygiène individuelle et sociale.

<i>L'alcool-aliment.</i> — Expériences d'Atwater et de Benedict. — L'alcool-poison. — Les lois d'hygiène et l'alcool. — La consommation de l'alcool en France. Consommation apparente, consommation réelle. — Consommation des spiritueux par nature de liquide. — Consommation par habitant, dans chaque département. — Consommation de l'alcool dans les villes ayant plus de 30.000 habitants. — Relation entre la consommation de l'alcool et le mouvement de la population dans chaque département. — L'alcoolisme en France. — L'alcoolisme en Normandie et en Bretagne. — L'alcool et les classes aisées. — L'alcoolisme populaire. Ses causes réelles. — La consommation modérée de l'alcool. — La dose hygiénique.	675
<i>Absinthe et Absinthisme.</i> — Toxicité de l'absinthe. — Les essences de l'absinthe, leur toxicité. — Consommation de l'absinthe. — Les projets de loi concernant l'absinthe	725
<i>Les législations étrangères sur l'absinthe.</i> — Belgique. — Suisse. — Pays-Bas. — Autres pays. — Ce que coûte l'alcoolisme en France.	739
<i>Les remèdes de l'alcoolisme.</i> — Remèdes individuels. — La propagande antialcoolique. Les ligues de tempérances — Remèdes législatifs. — La prohibition de l'alcool. — Le monopole de l'alcool. — La limitation et la réglementation des débits. — L'élévation des droits sur l'alcool. — Suppression du privilège des bouilleurs de cru. — Police des débits. — Application rigoureuse des lois contre l'ivresse publique. — Contrôle hygiénique de l'alcool. — Remèdes sociaux.	745
<i>Consommation de l'alcool dans les différents pays.</i> — Allemagne. — Angleterre. — Autriche-Hongrie. — Belgique. — Danemark. — Espagne. — Portugal. — Italie. — Norvège. — Pays-Bas. — Russie. — Suède. — Suisse. — Etats-Unis. — Canada. — Consommation individuelle comparée de l'alcool dans les différents pays.	768

CHAPITRE XI

L'alcool dénaturé. — Les usages domestiques et industriels.

Préambule. — Questionnaire. — L'alcool en dehors de la consommation de bouche. — Dénaturation. — Vinaigres. — Les emplois divers de l'alcool dénaturé. — Industrie des huiles essentielles, de la parfumerie et des eaux de senteur.	781
<i>Le régime fiscal des alcools dénaturés.</i> — Aperçu rétrospectif. — Loi du 16 décembre 1897. — Loi du 29 décembre 1900. — Loi du 25 février 1901. — Loi du	

29 novembre 1903. — Prix créés en faveur de l'alcool dénaturé. — L'alcool dénaturé suivant la formule générale. Prix de revient. Prix de vente. — La question du dénaturant. Sa composition. — Critique du dénaturant français. Le dénaturant et la fraude. Revivification. — Coût du dénaturant. Frais de dénaturation. — Réduction de la dose de méthylène ou des autres éléments du dénaturant.	788
<i>L'alcool et la force motrice.</i> — La question technique. — Rendement thermodynamique des moteurs. Comparaison de l'alcool avec l'essence. — Objections d'ordre technique à l'emploi de l'alcool dénaturé par la force motrice.	810
<i>La question économique.</i> — Consommation spécifique. Prix de revient du cheval-heure. Comparaisons. — L'alcool dénaturé à bon marché. Stabilité du prix — L'organisation de la vente au détail. — Tarifs de transport. — Formalités à la circulation et à la vente. — Le chauffage domestique par l'alcool dénaturé.	822
<i>Les divers modes d'éclairage.</i> — Combustibles solides. — Combustibles liquides. — Incandescence par le pétrole ou l'essence. — Eclairage à l'alcool. — Avantages et inconvénients. — Comparaison des divers éclairages au point de vue de leur prix de revient. — Quantités d'alcool pur soumises à la dénaturation pour le chauffage et l'éclairage. Quantités totales. Comparaisons. — Quantités effectives d'alcool dénaturé produites. — Le monopole de l'alcool dénaturé. — La concurrence du pétrole. — Cours comparés des pétroles et des alcools. — L'alcool dénaturé à l'étranger.	838
<i>L'alcool dénaturé en Allemagne</i>	864
<i>Règlements d'administration relatifs à l'alcool dénaturé.</i> — Dénaturation complète. — Dénaturation incomplète. — Alcools non dénaturés exonérés de l'impôt de consommation. — Les dénaturants allemands. — Dénaturant général. — Frais de dénaturation. — Prix de l'alcool dénaturé. — Dénaturant spécial pour les alcools destinés à la force motrice. — Situation économique de l'alcool dénaturé en Allemagne. Organisation commerciale. Impossibilité d'appliquer en France le système allemand. — Consommation de l'alcool dénaturé en Allemagne. Comparaison avec la France	868

CHAPITRE XII

Conclusions générales.

1 ^o Intérêts alcoolisateurs; 2 ^o Intérêts hygiéniques ou anti-alcoolisateurs. — Antagonisme des différents intérêts. — Solution du problème hygiénique de l'alcool. — Diminution de l'alcoolisme en France; ses conséquences éventuelles. — Conséquences éventuelles. — Exemples d'autres pays	890
APPENDICE. — Maximes et citations relatives aux boissons alcooliques et à l'alcoolisme	902
BIBLIOGRAPHIE.	

A LA MÊME LIBRAIRIE

Traité de l'Alcoolisme, par les D^{rs} H. TRIBOULET, médecin des hôpitaux; FÉLIX MATHIEU, médecin de l'Assistance à domicile; ROGER MIGNOT, ancien chef de clinique à la Faculté, médecin des asiles publics d'aliénés. Préface de M. le professeur JOFFROY. 1 vol. grand in-8. 6 fr.

L'Alcoolisme et la Lutte contre l'Alcool en France, par le D^r ROMME. 1 vol. petit in-8 de l'*Encyclopédie des Aide-Mémoire*, 2 fr. 50; cartonné toile. 3 fr.

La Lutte sociale contre la Tuberculose, par le D^r ROMME. 1 vol. petit in-8 de l'*Encyclopédie des Aide-Mémoire*, 2 fr. 50; cartonné. . . 3 fr.

Les Maladies populaires : Maladies vénériennes, alcoolisme, tuberculose. Etude médico-sociale, par L. RÉNON, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. *Deuxième édition*. 1 vol. in-8. 5 fr.

L'Alimentation et les Régimes chez l'homme sain ou malade, par le professeur ARMAND GAUTIER, de l'Institut. *Troisième édition revue et augmentée*. 1 vol. in-8, de 750 pages 12 fr.

Les Régimes usuels, par P. LE GENDRE, médecin de l'hôpital Lariboisière, et A. MARTINET, ancien interne des hôpitaux. 1 vol. in-8, de la *Bibliothèque de Thérapeutique clinique*, de 435 pages 5 fr.

Les Aliments usuels : Composition, Préparation, par le D^r A. MARTINET. *Deuxième édition revue et augmentée*. 1 vol. in-8 de la *Bibliothèque de Thérapeutique clinique*, de 352 pages. 4 fr.

Thérapeutique usuelle des Maladies de l'appareil respiratoire, par le D^r A. MARTINET. 1 vol. in-8 de 295 pages . . 3 fr. 50

Bibliothèque d'Hygiène thérapeutique, fondée par le professeur PROUST, membre de l'Académie de médecine, médecin de l'Hôtel-Dieu. Chaque volume, publié dans le format in-16 et cartonné toile, résume pour chaque type d'affection les connaissances indispensables sur l'évolution de la maladie et les soins d'hygiène. Prix de chaque volume 4 fr.

BALLET : *L'Hygiène du neurasthénique*. 3^e édit.
BOURGES : *L'Hygiène du syphilitique*. 2^e édit.
CHUQUET : *L'Hygiène du tuberculeux*. 2^e édit.
CRUET : *Hygiène et thérapeutique des maladies de la bouche*. 2^e édit.
DELFAU : *Hygiène et thérapeutique thermales*.
DELFAU : *Les Cures thermales*.

LINOSSIER : *Hygiène du dyspeptique*. 2^e édit.
LUBET-BARBON et SARREMONE : *Hygiène thérapeutique des maladies des fosses nasales*.
MATHIEU : *L'Hygiène du gouteux*. 2^e édit.
MATHIEU : *L'Hygiène de l'obèse*. 2^e édit.
SIREDEY : *L'Hygiène des maladies de la femme*.
SPRINGER : *L'Hygiène des albuminuriques*. 2^e éd.

exemple, dans la « dialyse chloroformique » (Dastre, Dubois). Bien avant de connaître les travaux publiés sur le sujet, bien avant la création du mot « autolyse », nous avons soumis, parallèlement (le regretté Adil-bey et nous), les cellules les plus variées à l'inanition simple et à l'inanition dans les vapeurs les plus diverses. Les expériences ont été multipliées depuis lors, et sans réclamer, bien entendu, la moindre priorité pour des recherches demeurées inédites, nous espérons cependant ne pas être accusé de plagiat.

Ce qui différencie le ramollissement simple du ramollissement autolytique, c'est toute une série de transformations macroscopiques, microscopiques, chimiques et biologiques, dont nous allons donner un aperçu d'ensemble.

CARACTÈRES DES ÉLÉMENTS AUTOLYSÉS.

La levure en autophagie commence par fermenter violemment (*autofermentation* des anciens auteurs); de même, pour nombre d'autres organismes et tissus, ainsi que chacun le sait. La *couleur* des amas cellulaires qui s'autolysent change fréquemment. Des objets d'étude, aussi différents que le pancréas du chien et la totalité des bactéries soumises à notre examen, s'opacifient dans les vapeurs de chloroforme et brunissent dans celles d'éther. L'*odeur* varie souvent et peut revêtir le caractère fétide (*autoputréfaction*, si l'on veut), en dehors de l'ingérence des anaérobies. La *réaction* devient presque toujours acide; d'où le critérium de la mort, proposé par Brissemoret et Ambard (acidification rapide des organes et, notamment, du foie). Des microbes très alcaligènes, tels que le bacille pyocyanique et le « bacille rouge » de Fortineau, demeurent cependant alcalins.

Les *transformations histologiques* sont aussi frappantes que les changements macroscopiques. On le reconnaîtra sans peine, en lisant les pages substantielles consacrées par Launoy à l'autolyse de la cellule hépatique. On verra comment le protoplasme se désintègre brusquement, comment dégénère le noyau et comment apparaissent les corps myéliniques. Chez les paramécies, l'inanition détermine d'abord l'éclaircissement et la

fonte de l'endoplasme; puis, l'ectoplasme et les cils sont atteints à leur tour; la cellule devient vacuolaire, le *macronucleus* se résout en poussière chromatique; enfin, l'organisme entier n'est plus qu'un amas de granulations, où persiste encore le *miconucleus* (Wallengren, Kazanzeff). La levure, soit inanimée (Trommsdorf, Albert), soit exposée aux vapeurs anesthésiques, s'éclaircit également; elle perd peu à peu la faculté de prendre le Gram; le noyau demeure apparemment intact. Les bactéries, étudiées par nous, subissent des modifications qui varient avec leur nature. Il faut faire intervenir, ici, une notion quasi ignorée et pourtant fondamentale, celle de la « solubilité » (décoagulabilité), notion sur laquelle nous avons déjà insisté plusieurs fois. Dans nos expériences d'*hétérolyse* (bile, filtrats de *bacillus subtilis*, pipéridine), les germes envisagés s'étaient montrés très diversement résistants aux agents décoagulants; les expériences d'autolyse imposent la même classification. Les espèces éminemment sensibles à l'autolyse (comme à l'hétérolyse) sont : le pneumocoque, le gonocoque, le bacille de la morve, le bacille de la peste, les vibrions...; les espèces peu sensibles : le staphylocoque et le bacille tuberculeux. Chez les premières, la forme devient d'autant plus indistincte que l'autophagie a été plus complète (aspect flou, transformation en une « ombre » véritable, voire en un détritux amorphe); chez les dernières, l'apparence reste presque normale. Entre ces deux extrêmes, se placent des bactéries tuméfiées, vacuolaires, mal colorables (bacille de Shiga, bacille d'Eberth, coli-bacille, bacille n° 7 de Flügge.....). L'étude des granulations métachromatiques prouve leur grande stabilité, rappelant celle des noyaux types, dont elles ont certainement la signification biologique; s'il s'agissait, en effet, de simples réserves, on les verrait disparaître d'une façon précoce. Il est permis d'affirmer que toute formation nucléaire se caractérise par une résistance marquée au regard de l'autolyse et, inversement, que l'autolyse peut être d'un réel secours pour déceler la nature nucléaire de formations indéterminées. On aurait donc bénéfice à introduire *systématiquement* les divers procédés de fonte cellulaire dans les recherches microscopiques, car ces techniques nouvelles faciliteraient la solution de problèmes parfois difficiles. Chacun conçoit que la première préoccupation des histologistes

ait été d'éviter l'autophagie des tissus, en perfectionnant les méthodes de fixation; mais, aujourd'hui, il faut conseiller sans crainte l'emploi méthodique d'un ordre de phénomènes jadis légitimement redouté. Plus encore que les noyaux, les spores résistent à l'autolyse (comme à l'hétérolyse); même au sein des vapeurs chloroformiques, leur vitalité et, éventuellement, leur virulence demeurent intactes. Notons, pour terminer, que le pouvoir protéolytique des microbes ne favorise nullement l'autophagie. Le bacille n° 7 de Flügge, susceptible de digérer l'ovalbumine coagulée, se désintègre infiniment moins que le pneumocoque, le gonocoque, le bacille de la morve.... inactifs, même sur la gélatine; et, cependant, le bacille de Flügge « mange » aisément diverses bactéries étrangères, d'autant plus aisément qu'elles sont plus solubles.

Nous dirons peu de chose des *transformations chimiques*, présentées par les cellules autolysées. Depuis Salkowsky, les auteurs ont montré que les substances ternaires et quaternaires disparaissent progressivement, laissant à leur place des produits de décomposition multiples, dont on trouvera la liste dans les ouvrages classiques. Le travail ci-joint d'Alilaire renseignera, de son côté, sur la solubilisation des matières azotées, chez le coli-bacille, pour des conditions d'autolyse variées; il donnera aussi quelques indications sur le sort des matières grasses.

Quant aux *transformations* que l'on peut appeler *biologiques*, elles se traduisent surtout (*à l'heure présente*) par la libération d'enzymes fort nombreux et de toxines diverses (principalement dans le cas des bactéries). Le travail d'Alilaire prouvera l'intégrité du poison des coli-bacilles, après onze mois d'autophagie. Le travail ci-joint de Salimbeni indiquera les moyens de préparer des « solutions » toxiques, en utilisant une technique imaginée naguère par Adil bey et nous. Il va sans dire que, seuls, les enzymes et toxines résidant à l'autolyse pourront être obtenus lors de la fonte cellulaire. Sous le nom de résistance à l'autolyse, on doit entendre, *actuellement*, l'indifférence au regard de l'acidité (organique), habituelle en pareil cas et au regard de certains enzymes oxydants et protéolytiques, libérés eux aussi (on sait que la zymase de la levure est facilement détruite par l'« endotrypsine » qui l'accompagne).

Telles sont les principales transformations auxquelles se reconnaît l'autolyse. Nous avons indiqué, en commençant, les deux causes essentielles du phénomène : inanition et « dislocation » ; il nous faut, maintenant, préciser davantage les circonstances où elles interviennent.

CONDITIONS DE L'AUTOLYSE.

Pour comprendre comment a lieu la fonte cellulaire, il est indispensable de se faire une idée du *fonctionnement* de la cellule ou, plus schématiquement, *de la substance vivante* réduite à une demi-abstraction. Nous nous réservons d'aborder ultérieurement ce sujet si ardu, avec les détails nécessaires. Il ne sera question, ici, que des points essentiels. La substance vivante s'édifie aux dépens de termes plus ou moins simples, selon sa puissance synthétique (les deux extrêmes étant assez bien représentés par les bactéries nitrifiantes et les éléments de l'écorce cérébrale humaine). Elle acquiert, peu à peu, une étonnante complexité et, corrélativement, une instabilité telle que son écroulement devient fatal. Pendant que s'opère cette destruction, l'édification recommence. Et ainsi de suite. Chaque particule de matière animée ne *vit* que pendant le temps infiniment petit qui sépare l'apogée de sa croissance et le début de son évanouissement. La série de ces existences particulières constitue la vie de la cellule, éventuellement transmise aux cellules filles. La vie est donc, pour ainsi dire, suspendue entre l'assimilation et la désassimilation, envisagées dans leur sens le plus large; son intensité résulte de l'amplitude de ce double mouvement nécessaire, simultané en apparence et successif en réalité.

Par conséquent, *lorsque la cellule possède une grande intensité vitale*, elle assimile avec énergie et désassimile pareillement. *Si l'on vient à supprimer, soudain, l'apport des aliments*, on provoque une violente rupture d'équilibre dans le sens de la désassimilation. Les actes régressifs — effacement des structures, décoagulation des colloïdes, hydrolyse et dislocation des composés ternaires et quaternaires — l'emportent fatalement sur les actes progressifs, — condensation, coagulation, « figu-

ration », — lesquels se poursuivent encore plus ou moins longtemps, suivant l'abondance des réserves. Il en résulte une tendance obligée vers le ramollissement des parties, le flou des images microscopiques, la simplification des constituants moléculaires, c'est-à-dire vers l'autolyse, avec les caractères que nous lui avons reconnus. Cette usure, d'abord mal compensée puis non compensée, mène droit à la fin, puisque la source de la substance vivante est tarie. Quand il s'agit d'éléments très différenciés, partant, de grande amplitude vitale, tout se jouera en un clin d'œil : la mort subite, par syncope cardiaque, traduit la mort subite de la cellule nerveuse, par arrêt subit de la circulation. Nous venons de dire que, même sur la pente de la désassimilation, la substance vivante peut être le siège d'efforts constructifs. Comme exemple classique, citons la réalisation accélérée des formes de résistance, lorsque leurs matériaux sont déjà prêts. Chacun sait, depuis Rees, que la levure bien nourrie sporule quand on l'étale sur du plâtre humide. Schreiber a montré, de son côté, que des flocons de cultures charbonneuses « normales », transportés d'un milieu riche dans l'eau salée, produisent des spores abondantes au bout d'une dizaine d'heures ; on se serait adressé à des bactériodites « asporogènes », qu'elles auraient bientôt péri. L'inanition brutale, qui tue l'individu, engendre donc, lorsque cela est permis, une intense réaction formatrice, qui sauve l'espèce. Toutefois, on ne doit pas oublier que si des actes progressifs demeurent possibles en pleine désassimilation forcée, les actes régressifs auront, eux, le dernier mot et se continueront même *post mortem*.

A mesure que baisse l'amplitude fonctionnelle, les conséquences du manque d'aliments se font sentir moins immédiatement ; ainsi, les cultures bactériennes âgées supportent mieux l'inanition que les cultures jeunes (Ficker). Mais la mort finit toujours par arriver. Dans les amas microbiens, certains individus privilégiés continuent à subsister *pro tempore*, aux dépens des produits de destruction des autres, comme, chez l'animal famélique, les cellules nobles vivent momentanément sur le contenu des éléments d'ordre inférieur. Le travail d'Alilaire prouvera que le coli-bacille, en air limité, peut donner encore des repiquages tardifs, malgré le développement de l'autolyse

et malgré l'acidité qui accompagne celle-ci. On ne saurait s'empêcher de comparer entre elles la « vie acide » précaire de ces bactéries et la « vie acide », non moins précaire, des herbivores devenus carnivores par absence de nourriture. L'acidité demeure donc bien la caractéristique de la désassimilation exagérée, quel que soit l'organisme en jeu.

Chez les êtres à l'état de vie latente, l'inanition se prolonge, sans dommage, pendant des périodes considérables. Pour ne citer qu'un exemple, nous avons fait revivre, jadis, des anguilles de la nielle du blé que Pouchet avait desséchées quatorze ans auparavant.

Il n'a été question, jusqu'ici, que des effets de la privation brusque d'aliments sur les cellules douées d'une intensité vitale variable; inutile d'envisager les résultats de l'inanition *progressive*, dans la série des mêmes cas. Rappelons, simplement, qu'un bon parallèle entre les deux ordres de phénomènes est fourni par l'histoire, classique, des oblitérations vasculaires, qui s'étendent de l'embolie type à la thrombose la plus lente.

L'autolyse, avons-nous dit dans les premières lignes de ce travail, succède régulièrement aux dislocations cellulaires, lorsque des facteurs surajoutés ne s'y opposent point. Il est facile de comprendre pourquoi. Envisageons, d'abord, les *dislocations grossières*. Elles tuent la substance vivante, comme on brise un mécanisme artificiel, ou, tout au moins, altèrent assez profondément les structures pour qu'une réédification sérieuse demeure impossible. Elles opèrent donc, ainsi que l'inanition subite, dans le sens régressif. Mais avec certaines différences, cependant. Si elles précipitent encore plus la désassimilation, par *multiplication des surfaces*, en rendant brutales des transformations jadis ménagées et simultanées des transformations jadis successives, elles la modifient aussi qualitativement, par *confusion des parties*, en provoquant la réaction d'éléments destinés à s'ignorer et qui se rencontrent d'une façon inopinée.

L'étude des *vapeurs anesthésiques* est pleine d'intérêt. On ne saurait contester, après les travaux d'Overton, de H. Meyer, de tant d'autres, qu'elles agissent, avant tout et énergiquement, sur les lipoides cellulaires; d'où une dislocation obligée de la substance vivante, avec les conséquences que nous

venons d'indiquer. Lorsque les cellules sont privées d'aliments, l'autolyse évolue très vite, puisque l'inanition se complique de désordre structural. A la condition, toutefois, que les vapeurs ne possèdent pas un pouvoir coagulant notable ou, ce qui revient au même, qu'elles ne portent pas leur action sur un protoplasme particulièrement « tendre », sans quoi l'autophagie se trouverait gênée, voire totalement entravée. Le mémoire de Salimbeni prouvera que les vibrions, qui subissent une fonte très marquée, quand ils sont simplement privés de nourriture, s'acidifient peu et *durcissent*, sous l'influence des vapeurs chloroformiques; le bacille de Shiga, au contraire, s'autolyse en présence du chloroforme comme en son absence. Dans les circonstances où toute coagulation fait défaut, les anesthésiques exagèrent donc les phénomènes régressifs. Ce sont des *excitants*, au sens courant du mot; ils « poussent à la consommation », si l'on ose dire. Aussi provoqueront-ils une désassimilation *intense et non compensée* chez la cellule inanitiée, et une désassimilation *intense et compensée*, partant, un relèvement de l'amplitude vitale — chez la cellule bien pourvue d'aliments ou de réserves. Quelques exemples caractéristiques vont le démontrer. Quand on expose des fragments de végétaux aux vapeurs anesthésiques, ces tissus affamés s'autolysent rapidement, comme l'indique l'apparition de couleurs et d'odeurs anormales. Ainsi, on verra les parties étudiées noircir, sous l'influence des oxydases qu'elles contenaient et dégager des parfums variés (acide cyanhydrique, vanilline, coumarine...), par hydrolyse des glucosides intracellulaires. Quand on expose des végétaux entiers aux mêmes vapeurs, il en va tout autrement. On peut observer, alors, une floraison précoce chez les arbres dont les bourgeons sont formés avant l'hiver, notamment chez les lilas. C'est la méthode de *forçage* de Johanssen, qui exige un certain doigté, sous peine de tuer les plantes par usure excessive. Dans ce procédé, d'ailleurs, il n'est pas indifférent de s'adresser à tel ou tel composé volatil : l'éther convient mieux que le chloroforme pour le lilas, le chloroforme mieux que l'éther pour le muguet (Eymard, de Montpellier); l'éther échoue sur le prunier du Japon, tandis que le chloroforme donne d'excellents résultats (Leblanc, de Nancy).

Le forçage, c'est donc l'excitation utile, quelle qu'en soit la cause, quel qu'en soit le mécanisme intime; c'est bien la désassimilation intense et compensée, comme nous venons de le dire. Avant Johannsen, on employait des stimulants plus physiologiques, mais moins rapides comme effets, la chaleur et l'humidité, agents naturels des germinations, des éclosions, des reviviscences — agents d'autolyse, aussi, chez les cellules inanitiées. Récemment, Weber proposait d'injecter de l'eau dans les bourgeons, Molisch, d'utiliser l'influence du radium — radium et rayons ultra-violetts sont encore des agents d'autolyse. Chacun connaît les travaux classiques de Duclaux, sur le forçage des œufs de ver à soie. Quant aux méthodes innombrables qui permettent de réaliser cet autre forçage, si curieux, la parthénogénèse artificielle, elles ne font que « déclencher » les procès constructifs, en pesant sur la désassimilation. Selon les circonstances, la substance vivante répond donc aux divers stimulants, tantôt par la croissance et le développement, tantôt par la maladie et la mort : tout dépend de l'accord ou du désaccord entre les actes régressifs et les actes progressifs. Ces derniers sont fort mal connus. Il en est de la cellule comme de beaucoup de gens; si elle dépense bruyamment, elle accumule d'une façon infiniment plus discrète. L'assimilation, phénomène silencieux, nous apparaît sollicitée d'un côté par les multiples modalités de la désassimilation, de l'autre par l'abondance et la nature des aliments, qui représentent ses seuls excitants directs.

Nous avons montré que toute dislocation *évidente* joue le rôle d'un stimulant, c'est-à-dire d'une cause de dépense. La réciproque est parfaitement vraie, car un excitant, quel qu'il soit, ne saurait exagérer les manifestations vitales qu'en accentuant les phénomènes destructifs, qu'en amplifiant ce qui peut s'appeler, sans paradoxe, la « dislocation normale ». On conçoit, maintenant, qu'il existe deux manières et deux seulement de se débarrasser d'une cellule : la tuer ou « l'amener au suicide ». Envisageons la catégorie des microbes. Négligeant les destructions radicales (carbonisation, cuisson, « solubilisation » dans les acides et alcalis concentrés), nous rencontrons, d'abord, les décoagulations et surtout les coagulations que réalisent les antiseptiques énergiques — puis, toute la série des désinté-

gratious longuement étudiées ici et qui s'étendent du broyage mécanique aux troubles microscopiquement inappréciables, en passant par les effets de composés « indifférents », solvants des lipoïdes cellulaires. Dans le premier ordre de cas, la composition chimique de la substance vivante subit des changements profonds et aucune autophagie ne peut se manifester *post mortem*; dans le second, au contraire, la mort résulte fatalement de l'usure excessive qu'engendre le désordre structural. Il convient de rappeler que beaucoup des facteurs de ce désordre occasionneront une fin rapide sans autolyse ultérieure, s'ils vont jusqu'à coaguler le protoplasma; et qu'inversement des agents, envisagés comme coagulants, détermineront le « suicide » au lieu de la mort brutale, quand ils opéreront avec discrétion. D'autre part, la présence ou l'absence d'aliments joue un rôle considérable. Les microbes, bien nourris et plongés dans leur milieu nutritif, résistent notablement aux antiseptiques coagulants et, plus encore, aux antiseptiques « dislocateurs ». Ceci nous amène à dire quelques mots d'une question fort importante en bactériologie.

*Pasteur s'est demandé, jadis, quels motifs amenaient l'arrêt du développement, chez les organismes qu'il étudiait. On ne pouvait incriminer, comme il l'a noté, que l'épuisement ou la « substance ajoutée ». Ses expériences lui montrèrent, dans un cas particulier, l'influence prépondérante de l'épuisement. En réalité, les deux facteurs interviennent et ce que nous venons d'apprendre conduit à la notion suivante : la substance ajoutée se révélera d'autant plus nocive que le milieu aura subi un plus grand appauvrissement. Mais il faut tenir compte, également de la nature des germes et de leur réaction aux causes hostiles. Les microbes tournent parfois la difficulté en formant des spores, moins vite ici que dans les exemples choisis antérieurement. Ils sont, aussi, susceptibles de s'adapter à l'inanition en diminuant leurs exigences nutritives et de lutter contre les agents nuisibles en les détruisant. On verra, alors, naître des générations successives, comme c'est le cas pour différents germes, notamment pour ceux qui donnent des voiles. Pasteur avait bien remarqué que la levure, enrayée dans sa vie sans air au fond des cuves, remonte à la surface et s'y multiplie sous forme d'un « aérobie secondaire ». Chez le *bacillus subtilis*,*

l'aérobie secondaire apparaît d'une façon excessivement précoce, dès que l'oxygène du milieu a été consommé. Entre ces deux extrêmes, se placent tous les intermédiaires possibles. Lorsqu'un microbe forme voile, il est habituel de voir la pelticule renaître pendant quelque temps, quand on la brise systématiquement; elle devient, cela va sans dire, de plus en plus mince et discontinue. Le développement superficiel permet l'emploi de l'oxygène ambiant; d'où combustion des substances nocives, changement de réaction et possibilité de transformer les aliments devenus inassimilables. Le bacille diphtérique, ensemencé dans le bouillon sucré, commence par l'acidifier et végète, alors, maigrement au sein du liquide. Il produit, ensuite, un aérobie secondaire, neutralise puis alcalinise le milieu, croît avec abondance, donne à volonté plusieurs voiles consécutifs et fournit une bonne toxine (Roux et Yersin). Les générations successives s'observent également chez les anaérobies stricts; ici, la substance ajoutée doit disparaître par hydrolyse (Verworn). Mais qu'est-ce donc que la *substance ajoutée*? Sous ce nom imprécis, il convient d'entendre tout excès d'acide et d'alcali, toute formation de composés antiseptiques et toute apparition d'agents bactériolytiques (voire bactériocoagulants). Nous avons montré que certains germes demeuraient longtemps vivants en pleine masse désintégrée, c'est-à-dire en pleine substance ajoutée de haute concentration, parce qu'ils se nourrissaient des cadavres d'autrui. Si ces cadavres constituent un aliment de disette, auquel on verra les survivants s'habituer, ils représentent, aussi, une source de corps nuisibles, spécifiquement nuisibles même pour tels d'entre eux. La résistance des individus privilégiés tient donc non seulement à leur « art d'utiliser les restes », mais encore à leur pouvoir de les rendre inoffensifs.

Connaissant les conditions de l'autolyse, nous devons nous poser les deux questions suivantes : comment la prévenir, comment la « traiter »? *Prévenir l'autolyse*, c'est éviter les causes variées qui la provoquent ou du moins reculer l'échéance fatale des accidents. L'intervention palliative justifie seule quelques développements. Elle se confond avec le problème de la *conservation des cellules*, des cellules microbiennes nommément. Il s'agit de gagner en durée ce qu'on perd en intensité,

de substituer l'état de « vie latente » à l'état de « vie manifestée ». On peut y arriver par le desséchement. Chacun sait quelle influence le degré d'hydratation exerce sur les échanges; le phénomène du forçage et, schématiquement, les expériences de Weber, nous l'ont rappelé une fois encore. Cependant, la dessiccation, même opérée soigneusement, reste un moyen exceptionnel. Mieux vaut laisser les cellules dans leur milieu ou les transporter dans des milieux encore plus favorables au mode réduit d'activité que l'on désire imposer. Pour les cellules animales, les auteurs préconisent diverses solutions cristalloïdes, isotoniques bien entendu. Les colloïdes organiques sont certainement préférables. Ainsi, Magitot maintient vivants, durant trois semaines, les éléments de la cornée du lapin, qui périssent normalement au bout d'une heure, en utilisant le sérum hémolysé de lapin et en le renouvelant chaque jour. De même, pour ce qui concerne les microbes. Nous avons montré, avec Adil bey, que le meilleur moyen de garder intact le virus de la peste bovine consistait à répartir le sang infecté dans la gélatine. C'est également dans la gélatine que Truche et Cotoni conservent, pendant longtemps, la vitalité et la virulence de germes réputés très fragiles, les pneumocoques. Si l'on veut réaliser complètement l'état de vie latente, il est indispensable de combiner l'influence du froid et celle d'un milieu convenable; d'où l'usage courant de la glacière en technique bactériologique. Il existe, cependant, des contre-indications à l'emploi des basses températures. Magitot conseille de se tenir, pour la cornée, entre + 6 et + 8 degrés. Morax signale que le gonocoque et le diplobacille de la conjonctivite chronique meurent rapidement au sortir de l'étuve; ils semblent être devenus des « microbes à sang chaud » par adaptation parasitaire. Nous rappellerons que la majorité des germes se conservent d'autant mieux qu'on laisse moins d'air dans les tubes qui les contiennent et que l'obscurité est plus complète autour d'eux (la lumière favorise beaucoup les oxydations, partant l'usure organique). Pour les cellules animales, l'intervalle séparant « la vie ralentie » de la « vie arrêtée » demeure étroit. Il faut avant tout, ici, éviter l'asphyxie; Magitot y parvient avec son sérum chargé d'hémoglobine.

Comment traiter l'autolyse? Toutes les fois que l'injure subie

n'est pas irréparable, il suffit de réaliser les conditions les plus propices au rajeunissement des éléments atteints; la désassimilation se trouve ainsi compensée, voire surcompensée. Les cellules animales et végétales seront donc remises en bonne place par la greffe; les microbes, par le repiquage dans un milieu favorable, à la température optima. Il est clair qu'*in vivo* le traitement direct de l'autolyse apparaît infiniment plus ardu qu'*in vitro*, mais le principe demeure le même.

MÉCANISME DE L'AUTOLYSE.

Pour saisir, le mieux possible, les *conditions de l'autolyse*, il fallait, avons-nous dit, se faire une idée du fonctionnement de la cellule ou, schématiquement, de la substance vivante. Pour tenter de comprendre le *mécanisme de l'autolyse*, on doit s'efforcer d'évoquer l'image, malheureusement bien vague, des constituants cellulaires et de leur rapports. Nous nous bornerons, cette fois encore, à quelques indications sommaires; le reste viendra plus tard. On peut se figurer la substance vivante comme formée de micelles, essentiellement albuminoïdes, dont certaines atteignent une complication extrême et, par là même, savons-nous, une extrême instabilité. Ces micelles, suspendues dans un liquide riche de composés variés (électrolytes et non électrolytes), affectent d'intimes relations avec les lipoides de la cellule (et aussi, chez les végétaux, avec des colloïdes de nature ternaïre). La substance vivante s'édifie et s'écroule sans cesse, passant de la condition de matière banale à la « dignité » de matière hautement spécifique, pour retomber finalement à l'état de mélange d'éléments « étrangers ». Elle élabore les agents de sa construction et de sa destruction incessantes, dont les enzymes (diastases) représentent les seuls que nous « tenions » un peu. Ces enzymes, d'abord inefficaces, s'activent soit au sein de la cellule, soit après l'avoir quittée, suivant la distance à laquelle ils fonctionneront (on peut citer, comme extrêmes, la zymase de la levure et le suc pancréatique, ou plutôt certains de ses composants). Les *diastases intracellulaires* préparent les matériaux qui constitueront la substance vivante et, lors de

surabondance alimentaire, en accumulent une partie sous forme de dépôts. Elles jouent aussi le rôle opposé, mieux connu, « simplifiant » les restes de la matière qui vient de vivre et solubilisant les réserves dans les moments de disette. Par delà les enzymes, nous sommes convaincu qu'il existe d'autres agents constructifs et destructifs, tout au moins des éléments du groupe « anticorps normaux », qui président à la coagulation et à la décoagulation des micelles. L'existence de ces *coagulines* et de ces *lysines* est attestée par nombre de faits significatifs, épars jusqu'ici.

Pendant la vie courante, les agents constructifs et destructifs interviennent avec une parfaite harmonie. L'*inanition* rompt l'équilibre, en faveur des actes régressifs. Rien de plus évident; mais comment se représenter les choses? Envisageons, d'abord, ce qui advient de la *trame albuminoïde*, dont l'effondrement constitue, pour tous les auteurs, l'essence du phénomène autolytique. Les micelles se trouvent décoagulées par les lysines dont l'effet précède, d'après nous, celui des enzymes digestifs. L'étude de ces lysines est à peine ébauchée, dira-t-on; on sait cependant que certains filtrats bactériens, dénués de tout pouvoir protéolytique, dissolvent les germes homologues (recherches d'Emmerich, sur le bacille du rouget). Nous avons déjà mentionné, de notre côté, que, parmi les microbes subissant avec la plus grande énergie la fonte cellulaire, figurent précisément des espèces inactives, même vis-à-vis de la gélatine. Il est évident qu'ici la décoagulation des micelles, favorisée par la « solubilité » spéciale des germes, joue le rôle dominant et que la digestion ultérieure, sous l'influence des enzymes, demeure pour le moins fort limitée. Inversement, considérons le cas du bacille n° 7 de Flügge, organisme très protéolytique. Si nous enrobons un cube de blanc d'œuf coagulé dans la masse microbienne et que nous fassions autolyser celle-ci, l'ovalbumine sera digérée sans peine. Au lieu de blanc d'œuf, choisissons des germes bien « solubles », comme les bacilles morveux; ils auront complètement disparu après quelque temps. Cependant, le microbe de Flügge, lui, ne s'autolyse que moyennement, soit seul, soit en présence d'albumine ou de bactéries étrangères. Puisque, pourvu abondamment d'enzymes digestifs, il « fond » relativement peu, c'est que de tels enzymes doivent

s'attaquer, d'une façon exclusive, à des micelles déjà décoagulées par d'autres agents.

Ainsi disparaît, selon nous, la trame albuminoïde, pendant l'autolyse. Parallèlement, de nombreuses diastases simplifient les *composés non protéiques* et cette désassimilation outrée engendre les changements de consistance, de couleur, d'odeur, de réaction, que nous avons rappelés plus haut. L'effacement des structures multiplie la surface d'attaque des enzymes et libère même certains d'entre eux, comme il est facile de l'établir expérimentalement. Cette mobilisation, tantôt complète tantôt relative, exagère encore le désordre cellulaire; d'où un cercle vicieux, dont les effets ne cessent qu'avec l'épuisement des diastases et la disparition des substances transformables. On rencontre, dans les autolysats, non seulement des enzymes de régression, mais encore des enzymes de synthèse (et, aussi, des coagulines); en l'absence de matériaux nutritifs, ces derniers ne sauraient, naturellement, contre-balancer l'influence des autres. Faut-il rappeler que la fonte cellulaire évolue plus rapidement à l'étuve qu'à la température ambiante (action favorable de la chaleur sur tous les agents lytiques) et cesse au delà d'un certain degré thermique (destruction de ces agents)?

Il est aisé de se représenter, maintenant, de quelle façon l'autolyse complique les *dislocations grossières* de la cellule. Nous en avons déjà résumé le mécanisme général par anticipation; inutile d'y revenir.

L'étude des *vapeurs anesthésiques* mérite, au contraire, certains développements. Et, d'abord, comment ces vapeurs pénètrent-elles? Elles se dissolvent dans les lipoides de la membrane, dit Overton; elles traversent purement et simplement celle-ci, grâce à une propriété que possèdent tous les corps qui abaissent la tension superficielle de l'eau, dit J. Traube. Nous ne pouvons discuter ici la théorie de Traube, basée sur un théorème connu de W. Gibbs, mais elle nous paraît expliquer convenablement les phénomènes; d'autant que l'existence constante et le rôle dominant des lipoides superficiels ont été niés par nombre d'auteurs, avec de bons arguments à l'appui. Peu importe, d'ailleurs, car tout le monde admet que, leur pénétration accomplie, les anesthésiques s'accumulent au sein des constituants gras intracellulaires. L'équilibre de la substance

vivante, c'est, schématiquement, l'équilibre entre une suspension protéique et une émulsion lipoïde ; on peut donc le détruire en agissant soit sur la suspension (ou le liquide intermédiaire), soit sur l'émulsion. Chacun sait que l'hémolyse, « phénomène-indicateur » typique, reconnaît trois mécanismes fondamentaux : modifications des albuminoïdes globulaires (action des décoagulants) ou du milieu (action de l'eau distillée, par exemple), — modifications des lipoïdes (action de tous les solvants des composés adipeux). De même, pour la bactériolyse ; si la « fonte » de la trame albumineuse représente le facteur le plus habituel de désintégration (celui auquel nous pensions, quand nous avons parlé de la « solubilité » respective des différents germes), il ne faut pas oublier que les troubles « régressifs » de l'émulsion grasse amènent seuls, dans certains cas, l'effondrement de la masse microbienne (expériences de Salimbeni, sur les éthers chlorhydriques de la glycérine). Mais pourquoi invoquer l'hémolyse ou la bactériolyse, puisque, à concentration suffisante et notamment chez les cellules inanitiées, les vapeurs anesthésiques déterminent un ramollissement aigu, dont l'œil suit aisément les progrès et qui révèle d'emblée la profonde altération du complexe organisé. Le relâchement des structures devient tel que la cellule se vide partiellement, sous l'influence de son énorme pression intérieure. (Avec les sels, les sucres, l'urée..., soit dit incidemment, résultat final identique, quoique mécanisme inverse ; si l'on admet les idées de Traube, il y a pour ainsi dire, alors, attraction du contenu cellulaire par des substances actives, incapables de franchir la paroi limitante). Rien n'est plus facile que de montrer combien l'accumulation des anesthésiques dans les lipoïdes favorise la mobilisation des agents désassimilateurs. Considérons certains enzymes énergiquement fixés, telle l'érepsine rénale. Vernon lave un rein isolé, pendant six jours, au fluorure de sodium (2 p. 400), sans obtenir de diastase peptolytique ; il fait, alors, circuler de l'eau physiologique saturée de chloroforme : après une heure, la moitié de l'érepsine libérable se trouve drainée. Parallèlement, le liquide sortant entraîne quantité de protéines ; preuve irréfutable de l'interdépendance des systèmes lipoïde et albumineux. Chez les humeurs mêmes, tout trouble, apporté aux connexions de ces deux systèmes, engendrera des effets analogues.

Delezenne et Pozerski traitent le sérum de chien par le chloroforme et voient apparaître une diastase gélatinolytique (et une kinase); Pozerski et nous, obtenons des résultats semblables avec l'amylène. Bien mieux. Nous prions notre ami Tendron de concentrer le sérum, selon la méthode de Gibson, et la propriété liquéfiante se manifeste encore: conséquence, ici, de la désintégration mécanique (quasi mécanique, si l'on préfère des composants humoraux. Comme les autres facteurs de dislocation, les anesthésiques libèrent non seulement les agents destructifs, mais encore les agents constructifs. C'est pourquoi, en présence d'aliments ou de réserves, on déterminera le forçage et non la fonte cellulaire.

Nous avons déjà dit quelques mots de l'hémolyse. Chacun sait que, d'après J. Löb, la *parthénogénèse artificielle* constitue également, « au départ », un phénomène lytique. Approfondissons ce parallèle à notre point de vue. Le globule rouge des mammifères adultes représente les restes d'une structure périmée, dont les heures sont comptées d'avance; il « glisse sur le plan descendant » et ne peut réagir que par l'accélération de sa chute. L'œuf fécondable, lui, représente de multiples structures en puissance; il « attend au bas du plan ascendant » que l'excitation desassimilatrice le fasse monter. Le premier apparaît fatalement voué à la cytolyse; le second l'évite toujours, quand l'expérimentateur sait y veiller. Les mêmes causes, qui « finissent » l'hématie, « commenceront » le nouvel être. Agissant sur le liquide intermédiaire, la suspension protéique ou l'émulsion lipoïde, elle mobiliseront les agents régressifs et la solubilisation des réserves permettra aux agents progressifs, également mobilisés, d'édifier l'organisme futur. L'excitation artificielle, partant exagérée, engendrera une réponse également exagérée et les oxydations, conséquences obligées de l'activité induite, pourront atteindre un tel degré qu'on devra les arrêter temporairement (par le cyanure de potassium ou l'hypertonie du milieu), sous peine de voir la substance vivante mourir d'usure, d'autolyse. Nous retrouvons donc le même mécanisme essentiel que pour le forçage des plantes; mais, tandis que, dans le bourgeon, l'œil discerne d'emblée les éléments qui vont s'épanouir, le microscope le plus puissant ne saurait déceler, ici, la moindre trace de l'indi-

vidu qui va naître. Il sommeille, à l'état potentiel. Et pourtant, les stimulants détermineront aussi sûrement son réveil qu'ils suscitent la floraison précoce de certains végétaux.

Les anesthésiques, composés dits (un peu abusivement) « indifférents », provoquent surtout l'autolyse en libérant les agents régressifs, grâce au trouble manifeste et étendu qu'ils apportent dans l'équilibre de la masse vivante. Les autres excitants, non solubles dans les lipoides, non « indifférents », que l'on nomme *excitants chimiques*, opèrent, eux, d'une façon intime et localisée. On doit les considérer comme favorisant le jeu de ces mêmes agents régressifs. Ce sont des « dislocateurs fins », des *activateurs*, dont la spécificité apparaît souvent absolue, toujours très marquée. Nous aborderons ailleurs leur histoire. Contentons-nous de rappeler l'exemple auquel chacun pensera immédiatement. Qu'on additionne d'un sel calcique le suc pancréatique inefficace et on le verra s'effondrer comme jamais cellule autolysée n'arrive à le faire (Delezenne). Le plus beau cas connu d'activation se confond donc avec le plus beau cas imaginable d'autolyse. Effondrement *in vitro*, il est vrai, et effondrement humoral, mais schéma impressionnant de ce que peut réaliser, *in vivo* et en pleine cellule, le groupe des « excitants activateurs ».

On saisira, maintenant (et mieux encore tout à l'heure), pourquoi la vie latente constitue le meilleur préventif de l'autolyse. On comprendra, aussi, pourquoi les sérums, avec leurs multiples substances « anti », neutralisent aisément les divers agents régressifs.

AUTOLYSE ET AUTOCOAGULATION.

L'autolyse reconnaît donc pour causes l inanition, la dislocation, prise dans son sens le plus étendu ou les deux. Elle se manifeste par le ramollissement, la décoagulation, l'écroulement moléculaire.

Existe-t-il un phénomène inverse, que traduiraient la rigidité, la coagulation, la condensation ? Oui. Et pour bien en comprendre la genèse et la portée, envisageons, de près, tous les rapports possibles entre l'assimilation et la désassimilation ; analyse plus délicate, peut-être, qu'on ne l'imaginerait à première vue. Voici

comment apparaissent ces rapports, dans leur ensemble. Lorsque l'assimilation et la désassimilation s'équilibrent harmonieusement, quelle que soit leur amplitude commune, c'est la *vie stationnaire*, conception limite, cela va sans dire. Quand la désassimilation l'emporte, mais que l'assimilation conserve une intensité suffisante, c'est l'*atrophie*. Lorsque la désassimilation l'emporte, tandis que l'assimilation tombe au-dessous d'une certaine valeur minima, c'est l'*autolyse*. Quand l'assimilation l'emporte, mais que la désassimilation conserve une intensité suffisante, c'est l'*hypertrophie*, voire l'*hyperplasie*. Lorsque l'assimilation l'emporte, tandis que la désassimilation tombe au-dessous d'une certaine valeur minima, c'est l'*autocoagulation*, phénomène inverse de l'*autolyse*; c'est la *naissance de formes résistantes*, rigides, coagulées, condensées, qui périront « étouffées », dès qu'on ne pourra plus peser sur les actes désassimilateurs pour les ramener à la vie active. Il existe donc un « cours » de l'autocoagulation, comme un « décours » de l'autolyse. Chose curieuse, les deux tendances opposées se partagent quelquefois la même cellule (sporulation rapide, lors d'inanition brutale), donnant ainsi l'image d'une action et d'une réaction également excessives.

L'étude de l'autocoagulation est encore plus difficile que celle de l'autolyse. On ne saurait s'en étonner, si on se rappelle le caractère essentiellement muet de l'assimilation, qui atteint alors son intensité maxima. Nous nous contenterons donc de quelques remarques. L'autocoagulation nécessite l'intégrité des structures, du moins dans les parties destinées à subir la condensation. L'absence d'aliments semble provoquer cette condensation, mais ne fait réellement que l'accélérer. Les divers facteurs, susceptibles d'entraver la désassimilation, influent favorablement ici, cela va sans dire : *dessèchement* et *plasmolyse* ménagés, *coagulation* discrète. Le *mécanisme*, inverse de celui de l'autolyse, peut se résumer en trois termes : *concentration du milieu* (propice au fonctionnement des agents de synthèse), *modifications « progressives » de l'émulsion lipœde*; *tassement des micelles albumineuses*.

Dans la *conception* générale des anticorps, que nous avons proposée, jadis, avec Abt et Pozerski, l'*hypersensibilité*, phénomène bruyant, était considérée comme traduisant une *hétérolyse*

et l'*immunité*, phénomène silencieux, une *hétérocoagulation*. La substance vivante, préalablement impressionnée par les antigènes, réagit donc vis-à-vis d'eux, tantôt d'un sens, tantôt de l'autre, comme on vient de voir qu'elle le fait pour ses propres éléments ; tout dépend des circonstances en jeu — plus précisément, du « signe » de leur résultante.

EXPÉRIENCES SUR L'AUTOLYSE DU COLI-BACILLE

par E. ALILAIRE.

Le coli-bacille employé par nous (coli-bacille J de la collection de l'Institut Pasteur) a été soumis à l'autolyse, dans des conditions variées, afin d'étudier les transformations des matières grasses et des matières azotées et les modifications possibles *a priori* de la toxicité pour le cobaye.

TECHNIQUE SUIVIE.

Nous avons fait usage de *bacilles jeunes* (18-20 heures), cultivés sur gélose à la pomme de terre [pour la culture et la récolte, voir notre travail avec M. Nicolle (1)].

Après avoir rendu les microbes homogènes, par trituration dans le vase qui a servi à les récolter, on prélève sur la masse des échantillons de 2 grammes environ, que l'on pèse exactement à la balance de précision, dans des petits tubes de verre tarés. Une partie de ces tubes serviront à l'étude de la matière grasse; l'autre, au dosage de l'azote solubilisé par l'autolyse ainsi qu'à l'étude de la toxicité, après des temps variant de 48 heures à 44 mois. Nous avons, pour chaque série de tubes, suivi la marche de l'autolyse, à l'étuve à 30 degrés, parallèlement dans l'air limité (en tube scellé) et dans une atmosphère de vapeurs de chloroforme.

Au moment de la récolte, nous avons trouvé, dans les microbes, 7 p. 100 d'une matière grasse, jaune, translucide, fluorescente et non cristallisée, et 4,51 p. 100 de matière azotée soluble. Ces chiffres ont été rapportés à 100 parties de corps de microbes secs.

TRANSFORMATIONS DES MATIÈRES GRASSES.

Dans le tableau suivant, nous indiquons les chiffres obtenus après 2, 10, 25, 60 jours, 4 mois et 44 mois, en dosant la matière

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1909.

grasse extraite, des microbes autolysés, par l'acétone et le chloroforme.

Matière grasse.

AU MOMENT de la récolte.	APRÈS 2 jours.	APRÈS 15 jours.	APRÈS 60 jours.	APRÈS 4 mois.	APRÈS 11 mois.	CONDITIONS de l'expérience.
7 p. 100	6,90	5,125	4,83	4,95	5,63	Air limité. 30°
7 p. 100	8,32	5,325	4,95	5,06	"	Vap. de chloroforme. 30°

D'après ce tableau, nous voyons que la quantité de matière grasse varie très peu pendant une autolyse limitée à 11 mois. Cette quantité diminue progressivement, par suite de la saponification des éthers de la glycérine et de la mise en liberté des acides gras; en effet, au bout de 25 jours, la graisse extraite est très bien cristallisée. Dans l'air limité et les vapeurs de chloroforme, l'évolution a été sensiblement la même.

TRANSFORMATIONS DES MATIÈRES AZOTÉES.

La quantité de *matière azotée totale*, contenue dans les microbes secs, atteint 64,5 p. 100. Le tableau suivant indique la variation de la *matière azotée soluble*, depuis le moment de la récolte jusqu'à 11 mois d'autolyse, dans l'air limité et dans les vapeurs de chloroforme.

Matière azotée solubilisée, p. 100 de corps de microbes secs.

AU MOMENT de la récolte.	APRÈS 2 jours.	APRÈS 10 jours.	APRÈS 25 jours.	APRÈS 60 jours.	APRÈS 4 mois.	APRÈS 11 mois.	CONDITIONS de l'expérience.
4,51	5,080	6,174	9,331	11,500	14,850	17,230	Air limité. 30°
4,51	7,637	10,131	15,162	17,020	16,800	16,850	Vap. de chloroforme. 30°

Si nous établissons un parallèle entre ces deux échantillons, maintenus 11 mois à 30 degrés, l'un dans l'air limité et l'autre dans les vapeurs de chloroforme, et si nous traçons deux courbes d'après les chiffres obtenus, nous voyons que, dans le premier

cas, l'azote soluble augmente, suivant une ligne presque droite, dont le point le plus élevé est atteint après 11 mois, et que, pour le second, il s'agit d'une courbe qui monte rapidement jusqu'au 25^e jour et se rapproche de plus en plus de la droite dont on vient de parler.

Les vapeurs de chloroforme ont donc la faculté de hâter considérablement l'autolyse, puisque la quantité de matière azotée solubilisée atteint son maximum après 60 jours, tandis qu'il aurait fallu 11 mois dans l'air limité pour obtenir le même résultat.

Un certain nombre d'échantillons ont été examinés après 60 jours d'autolyse, effectuée dans des conditions différentes, que nous indiquons dans le tableau ci-après.

Matière azotée solubilisée, p. 100 après 60 jours.

N ^{os}	MATIÈRE azotée solubilisée p. 100.	RÉACTION	CULTURE	PRESSION	CONDITIONS de l'expérience.	OBSERVATIONS
1	7.870	Acide.	Positive.	Nulle.	Air limité, temp. du lab., lumière diffuse.	Odeur fécaloïde; cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien dans la masse; réaction de nitrite.
2	11.500	Id.	Négative.	Id.	Air limité, 30°.	
3	9.600	Id.	Id.	Id.	Air limité, 30 degrés; bac. plus poids égal SO ⁴ H ² décinormal.	
4	23.800	Alcaline.	Positive.	Forte.	Air limité, 30 degrés; bac. plus poids égal de NaOH décinormale.	
5	16.120	Acide.	Id.	Légère.	Air limité, 30 degrés; bac. plus poids égal de H ² O	Couleur café au lait; nombreuses petites sphères jaune safran.
6	17.020	Id.	Négative.	Nulle.	Vapeurs de chloroforme.	
7	9.000	Id.	Id.	Id.	Atmosph. d'oxygène.	
8	8.250	Id.	Id.	Id.	Air limité, sur un toit (exposition au soleil).	

Parallèle entre les divers échantillons après soixante jours. —

Les cultures sont demeurées possibles, à ce moment, pour les expériences (1), (4) et (5). Dans (1), peu d'autolyse, pas de développement; donc, diminution numérique forcée, conservation pure et simple d'un certain nombre de germes. Dans (4), autolyse marquée, mais développement continu des microbes aux dépens de la substance de ceux qui périssaient. Dans (5), mêmes phénomènes, mais moins intenses, parce que la réaction n'avait pas été maintenue alcaline (absence de neutralisation de l'acidité due à l'autolyse). Les cultures ont été négatives pour les autres expériences. L'autolyse maxima s'est trouvée réalisée dans les vapeurs de chloroforme à 30 degrés (6): elle était moindre dans l'air limité à 30 degrés, moindre encore à 30 degrés en présence de l'acide sulfurique (3), inférieure encore en présence d'oxygène à 30 degrés (7), minima, enfin, dans l'air limité à la lumière solaire (8), où s'est manifesté certainement un développement temporaire.

TOXICITÉ.

On a étudié, parallèlement, les deux échantillons maintenus 11 mois à 30 degrés, l'un dans l'air limité, l'autre dans les vapeurs de chloroforme. La recherche de la toxicité a été faite après 12 jours, 60 jours, 120 jours et 11 mois. On a injecté, chaque fois, 0 gr. 2 dans le péritoine, 0 gr. 05 dans les veines et 0 gr. 005 dans le cerveau de cobayes de 500 à 600 grammes. De plus, on a comparé, chaque fois, l'émulsion telle quelle et l'émulsion chauffée 10 minutes à 100 degrés. La toxicité n'a varié ni sous l'influence de l'autolyse ni sous l'influence du chauffage superposé à l'autolyse. En un mot, toutes les injections intrapéritonéales, toutes les injections intraveineuses et toutes les injections intracérébrales ont donné les mêmes résultats *moyens*. Ces résultats peuvent se résumer ainsi. Les injections intrapéritonéales laissent 5/16 de survies; la mort a lieu, dans les cas positifs, en 4 à 36 heures. Les injections intraveineuses laissent 6/16 de survies; la mort a lieu, dans les cas positifs, en 3 1/2 à 20 heures. Les injections intracérébrales laissent 1/16 de survies; la mort a lieu, dans les cas positifs, en 6 à 15 heures.

PRÉPARATION DE " SOLUTIONS " TOXIQUES A L'AIDE DE L'AUTOLYSE

par A. T. SALIMBENI.

En utilisant des espèces microbiennes variées, nous nous sommes proposé d'appliquer la technique de MM. Nicolle et Adil bey à la préparation de solutions toxiques. De nombreux résultats expérimentaux nous ont été communiqués par M. Nicolle; après les avoir contrôlés, sur sa demande, nous avons poussé plus loin l'étude de la question. Le résumé qui suit se trouve ainsi représenter un travail continué pendant de longues années.

Pour obtenir des solutions microbiennes toxiques, il faut, de toute nécessité, s'adresser à des germes suffisamment actifs et surtout donnant des poisons sur lesquels l'autolyse n'offre point de prise sérieuse. D'une façon générale, nous avons pu nous convaincre, au cours de nos recherches, que l'influence nuisible de l'autolyse doit être rapportée, avant tout, à l'acidité (organique) habituelle en pareil cas, ainsi qu'aux enzymes oxydants, et protéolytiques, éventuellement présents. L'innocuité des solutions préparées avec le pneumobacille, le tétragène, le *B. melitensis*, la bactéridie asporogène, le bacille tuberculeux tient à la toxicité faible ou nulle des microbes étudiés; l'innocuité des solutions préparées avec le bacille de Löffler a l'extrême sensibilité du poison diphtérique au regard des acides.

TECHNIQUE EMPLOYÉE.

Les diverses bactéries sur lesquelles nous avons opéré ont été cultivées en suivant les indications de MM. Nicolle et Alilaire (1); nous avons utilisé l'étuve spéciale et les cuvettes de cuivre étamé construites pour eux. Sauf indication contraire,

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1909.

le milieu choisi était toujours la gélose à la pomme de terre (1).

Les corps microbiens récoltés après un maximum de vingt-quatre heures à 37 degrés, ont été soumis, en chambre humide, comme il suit, à l'action de diverses vapeurs.

Comme chambre humide, nous avons utilisé la cloche de Radais. Cet appareil se compose d'un plateau en porcelaine, portant dans son pourtour une rainure dans laquelle s'insère un dôme en verre dont la tubulure latérale est fermée par un bouchon de caoutchouc. On disposait sur le plateau et sous la cloche, un trépied de verre supportant le couvercle d'une boîte de Petri. On plaçait entre les montants du trépied un petit cristalliseur à fond plat, on enveloppait le tout de papier-filtre et on stérilisait à l'autoclave. Au moment de s'en servir, on étalait les corps microbiens (1-plusieurs grammes) sur le couvercle de la boîte de Petri, en soulevant le dôme en verre; on remplissait d'eau stérile la gouttière pour assurer la fermeture hermétique de la cloche et, par la tubulure latérale de celle-ci, on versait, à l'aide d'un tube effilé, quelques centimètres cubes du liquide vaporisable dans le petit cristalliseur; on fermait de nouveau la tubulure latérale avec le bouchon de caoutchouc et on plaçait l'appareil à l'étuve à 37 degrés. Après vingt-quatre heures, on émulsionnait l'autolysat avec de l'eau physiologique stérile; on versait l'émulsion dans un flacon à émeri stérile, renfermant des perles de porcelaine; on agitait fortement pour parfaire l'émulsion et on abandonnait le tout vingt-quatre heures à 37 degrés. Enfin on préparait des centrifugats et des filtrats de cette émulsion dont le titre *fixe* était d'un gramme de germes autolysés pour 40 cent. cubes d'eau physiologique. Les centrifugats, les filtrats et, éventuellement, les émulsions étaient injectés, sauf indication spéciale, sous la peau des souris (animaux de 20 grammes), dans le péritoine des cobayes (animaux de 400 à 500 grammes) et dans les veines des lapins (animaux de 2.000 à 2.500 grammes).

Comme il fallait s'y attendre les émulsions se sont toujours

1) On fait macérer dans un litre d'eau, pendant une nuit, d'une part 300 grammes de viande hachée, d'autre part 300 grammes de pommes de terre coupées en gros morceaux dans un second litre. On mélange les deux macérés, on ajoute 30 grammes de peptone Chapoteaut, 10 grammes de sel, 20 grammes de glycérine et 60 grammes de gélose. Le reste de la préparation n'offre rien de spécial (NICOLLE et ALILAIRE, *loc. cit.*).

montrées plus toxiques que les centrifugats et ceux-ci toujours plus toxiques que les filtrats.

Les substances vaporisables employées ont été très nombreuses : éther sulfurique, chloroforme, tétrachlorure de carbone, liquide des Hollandais, alcool méthylique, alcool éthylique, alcool amylique, benzol, etc. Pour diminuer l'acidité des autolysats, ou pour rendre ceux-ci neutres, voire même alcalins, on plaçait quelquefois, dans un petit godet supplémentaire (au fond de la cloche de Radais), une ou plusieurs gouttes d'ammoniaque. D'une façon générale, ce sont les vapeurs de chloroforme (seules) qui semblent donner les meilleurs résultats ; le fait est certain, en tout cas, pour le bacille de Shiga, sur lequel ont porté le plus grand nombre de nos expériences.

Il nous est arrivé dans plusieurs cas contraires, de réaliser l'autolyse pure et simple sans le secours des vapeurs, mais toujours à 37 degrés ; elle offre parfois de sérieux avantages comme on le verra à propos des vibrions. Il faut, dans ce cas, cultiver les microbes dans les flacons-boîtes Roux et les récolter à l'aide d'une grande spatule en platine, en prenant les plus grandes précautions pour éviter les contaminations par les germes de l'air, ce qui est pratiquement impossible quand on racle à l'air libre les germes cultivés dans les cuvettes métalliques.

ETUDE DU BACILLE DE SHIGA.

Cultivé sur la gélose à la pomme de terre, le bacille de Shiga fournit dans les vingt-quatre heures une couche assez épaisse de couleur écruë, de consistance molle, d'odeur fade (rappelant l'odeur de la fleur de marronnier) et de réaction facilement acide (début d'autolyse en culture). La récolte est pratiquement constante avec fort peu de différence d'une expérience à l'autre, 4 grammes environ par cuvette. L'exposition, en chambre humide, aux vapeurs de chloroforme (vingt-quatre heures à 37 degrés) détermine une fluidification très marquée et une augmentation considérable de l'acidité ; l'aspect devient plus opaque, tandis que, dans les vapeurs d'éther, la masse brunit (fait général). Sous l'influence des vapeurs de chloroforme, les germes meurent en moins d'une demi-heure.

Les chiffres suivants indiquent le *maximum de toxicité* des

émulsions, centrifugats et filtrats, obtenus à l'aide de l'autolyse, en vapeurs chloroformiques. Il est rare d'observer des chiffres notablement inférieurs à ce maximum.

SOURIS (*sous la peau*).

Émulsion.	1/150 de cent. cube a tué en 2 jours.
	1/4 de cent. cube a tué en 24 heures.
Centrifugat	1/100 de cent. cube a tué en 4 jours.
Filtrat.	1/2 cent. cube a tué en 6 jours.

COBAYE (*dans le péritoine*).

Émulsion	1/4 de cent. cube a tué en 3 jours 1/2.
	1/2 cent. cube a tué en 24 heures.
Centrifugat	1/2 cent. cube a tué en 3 jours 1/2.
	1 cent. cube a tué en 24 heures.
Filtrat.	1 cent. cube a tué en 24 heures.

LAPIN (*dans la veine*).

Émulsion	1/10 de cent. cube a tué en quelq. heures.
Filtrat.	1/100 de cent. cube a tué en 3 jours.
	1/10 de cent. cube a tué dans la nuit.

Nous avons tâché d'apporter diverses modifications à la technique indiquée plus haut (changements dans la température et le temps d'autolyse; emploi de vapeurs autres que celles du chloroforme; intervention ménagée des vapeurs d'ammoniaque; changement dans la température et le temps lors du stade d'émulsion, etc...); les résultats n'ont jamais été meilleurs, il se sont souvent montrés médiocres ou même franchement mauvais. Notons, comme indication utile, que les germes autolysés peuvent être indéfiniment conservés après dessiccation complète dans le vide en présence d'acide sulfurique, sans perdre la faculté de donner de bonnes émulsions et, partant, de bons centrifugats et filtrats; peut-être y a-t-il une légère baisse de toxicité, mais elle demeure pratiquement négligeable.

Des résultats intéressants ont été observés, au contraire, en modifiant les milieux de culture. Ils portent sur la toxicité (rarement plus faible, quelquefois plus grande) et principalement sur le *poids de la récolte*, facteur non négligeable quand on veut obtenir, avec un minimum de matériel, un maximum d'unités toxiques.

Selon le milieu choisi on note que la couche microbienne se modifie comme couleur, odeur et réaction, suivant deux types,

on peut dire constants (pour des cultures du même âge, cela va sans dire) et assez bien définis. Type n° 1 : couche d'aspect plus foncé qu'habituellement, de consistance pâteuse, d'odeur rappelant celle de la souris, de réaction neutre. Type n° 2 : dépôt de couleur saumonée, de consistance ferme, d'odeur urineuse, de réaction alcaline.

On a compris tout de suite que le type n° 1 correspond à une autolyse (en culture) plus faible que sur la gélose à la pomme de terre, et que le même phénomène doit être encore moins marqué pour le type n° 2.

Fournissent le type n° 1 : la gélose peptonée à 2 p. 100 et glycinée à 2 p. 100 [poids de la culture normal (c'est-à-dire le même que sur la gélose à la pomme de terre prise comme unité); toxicité normale (c'est-à-dire la même qu'avec les germes cultivés sur gélose à la pomme de terre)]; — la gélose peptonée à 2 p. 100 et glycinée à 4 p. 100 [poids $\frac{3}{4}$ normal, toxicité un peu diminuée]; — la gélose peptonée à 4 p. 100 et glycinée à 2 p. 100 [poids $\frac{3}{2}$ normal, toxicité normale]; — le même milieu + 0,5 p. 100 NaCl [poids $> \frac{4}{1}$ normal, toxicité augmentée (1/150 cent. cube de centrifugat tue la souris sous la peau)]; — le même milieu + 2 p. 100 de NaCl [poids normal, toxicité augmentée comme pour le milieu qui précède]; — la gélose peptonée à 4 p. 100 et glycinée à 4 p. 100 [poids $> \frac{3}{2}$ normal, toxicité augmentée (1/150 cent. cube de centrifugat tue la souris sous la peau; 1/4 cent. cube tue le lapin 600 à 900 grammes sous la peau)].

Fournissent le type n° 2, la gélose au bouillon Martin [poids normal, toxicité normale]; — la gélose peptonée à 6 p. 100 et glycinée à 2 p. 100 [poids $> \frac{7}{4}$ normal, toxicité normale]; — la gélose peptonée à 6 p. 100 et glycinée à 4 p. 100 [poids $\frac{5}{4}$ normal, toxicité normale]; — la gélose peptonée à 8 p. 100 et glycinée à 2 p. 100 [poids $\frac{7}{4}$ normal, toxicité normale]; — la gélose peptonée à 8 p. 100 et glycinée à 4 p. 100 [poids $\frac{7}{4}$ normal, toxicité normale].

En résumé : la toxicité la plus grande a été obtenue avec le milieu : gélose peptonée à 4 p. 100 et glycinée à 4 p. 100. Comme ce milieu est d'une préparation plus simple et d'une comparabilité plus grande que la gélose à la pomme de terre,

comme il fournit, d'autre part, des récoltes plus abondantes, il constitue le milieu d'élection pour le but que nous nous sommes proposé. Les trois milieux du type n° 2, qui permettent d'obtenir des récoltes considérables, peuvent également rendre des services; malheureusement, la toxicité n'est pas ici supérieure à celle des cultures sur la gélose à la pomme de terre.

ÉTUDE DES DIVERSES BACTÉRIES.

VIBRIONS CHOLÉRIQUES. — Cultivés sur la gélose à la pomme de terre, ils fournissent un dépôt analogue à celui du bacille de Shiga, au début de leur développement; après dix-huit à vingt heures, la consistance est devenue plus molle, presque coulante, et une faible acidité a apparu. Au bout de dix-huit heures d'étuve (il ne faut guère dépasser ce laps de temps), la récolte oscille autour de 6 grammes par cuvette pour l'échantillon que nous avons plus particulièrement étudié (Nha-trang, 1909, et que visent les chiffres ci-dessous. Les vibrions sont très sensibles à la coagulation et leur toxine très sensible à l'acidité, contrairement aux bacilles de Shiga. On devra donc éviter de les exposer aux vapeurs de chloroforme qui les durcissent, gênant ainsi l'autolyse, et même de les soumettre pendant trop longtemps à la simple action de la chaleur, en chambre humide.

Les deux méthodes qui nous ont le mieux réussi pour obtenir des solutions toxiques sont les suivantes :

1° On place pendant huit heures la pâte microbienne dans la cloche de Radais, à 37 degrés, sans addition de vapeurs. Au bout de ce laps de temps, la réaction étant déjà franchement acide, on ajoute de l'eau légèrement salée (0,3 p. 100 de NaCl) et faiblement alcaline (1 cent. cube de soude normale par litre) dans la proportion de 2 cent. cubes par gramme de microbes. La pâte microbienne transformée par l'addition de cette faible quantité de liquide en une masse légèrement glaireuse et coulante, est de nouveau placée en chambre humide à 37 degrés pendant seize heures; puis émulsionnée dans 38 cent. cubes d'eau alcaline et abandonnée une dernière fois à 37 degrés pendant vingt-quatre heures.

Dans certaines de nos expériences, le liquide obtenu par cen-

trifugation à la dose de 1/10 de cent. cube (correspondant à l'autolysat de 0 gr. 0025 de vibrions) a tué en injection sous-cutanée, dans les vingt-quatre heures, le cobaye de 200 grammes environ. Malheureusement, les résultats sont peu constants ;

2° On expose la masse microbienne à l'action combinée des vapeurs d'éther et d'ammoniaque (traces) de façon à réaliser l'autolyse en milieu neutre ou à peine alcalin. Après vingt-quatre heures à 37 degrés, on se comporte comme d'habitude. Les centrifugats ainsi obtenus tuent assez régulièrement le lapin de 800 grammes environ à la dose de 1 cent. cube dans la veine, et le cobaye adulte sous la peau.

Le vieillissement et l'action de la chaleur (une heure à 60 degrés) affaiblissent considérablement, sans toutefois la détruire, la toxicité des autolysats.

Sur la gélose Martin, les vibrions donnent un dépôt saumoné de consistance ferme, d'odeur urineuse, de réaction alcaline, comme le Shiga. La toxicité n'est pas plus forte que sur la gélose à la pomme de terre, au contraire.

AUTRES BACTÉRIES. — Les données qui suivent résument (d'une façon peut-être excessive) un *très grand nombre d'expériences* avec des germes cultivés le plus souvent sur gélose à la pomme de terre (le gonocoque était toujours cultivé sur gélose ascite), et soumis à des techniques variées. Les meilleurs résultats ont été généralement obtenus lorsque l'autolyse avait lieu en présence de vapeurs de chloroforme.

Nous ne mentionnerons ici que l'action des *filtrats* (les émulsions étaient toujours plus toxiques) et nous rappellerons que 1 cent. cube de filtrats correspond à 25 milligrammes de microbes autolysés. Très souvent, les lapins ont montré de la diarrhée une heure environ après l'injection (intraveineuse).

B. pyocyanique. — 1 cent. cube tue habituellement le cobaye dans le péritoine.

B. d'Eberth. — 1 cent. cube tue la souris sous la peau ; 1/2 cent. cube tue le cobaye dans le péritoine ; 1/10 cent. cube tue le lapin dans la veine.

Coli-bacille. — 1 cent. cube tue la souris sous la peau, le cobaye dans le péritoine, le lapin dans la veine.

B. de la psittacose. — 1 cent. cube tue habituellement le lapin dans la veine.

Proteus. — 1 cent. cube tue habituellement le lapin dans la veine.

B. rouge de Fortineau. — 1 cent. cube tue la souris sous la peau, le cobaye dans le péritoine, le lapin dans la veine.

B. suipestifer. — (Paratyphique B). 1 cent. cube peut tuer le cobaye dans le péritoine, et le lapin dans la veine.

B. du choléra des poules. — 1 cent. cube peut tuer le lapin dans la veine.

B. de la morve. — 1 cent. cube peut tuer le cobaye dans le péritoine, et le lapin dans la veine.

B. de la peste. — 1/4 cent. cube tue la souris sous la peau ; 1 cent. cube peut tuer le cobaye dans le péritoine.

Staphylocoque. — 1 cent. cube peut tuer le lapin dans la veine.

Gonocoque. — 2 cent. cubes tuent le cobaye dans le péritoine.

Rappelons en terminant l'innocuité de certains filtrats (pneumobacille, tétragène, *b. melitensis*, bactéridie asporogène, *b. tuberculeux*, *b. de Löffler*), que nous avons déjà signalée au début de ce travail.

Les résultats qui précèdent ne sont évidemment valables que pour les échantillons que nous avons utilisés (1 ou 2 de chaque espèce) ; ils donnent déjà cependant une certaine idée de la toxicité comparée des germes étudiés dans la mesure où leur poison résiste à l'autolyse (non ménagée).

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CONTRE L'ACTION ANTICOAGULANTE DE LA PEPTONE

par E. POZERSKI et Mme M. POZERSKA

(Suite et fin.)

(Travail du laboratoire de Physiologie de l'Institut Pasteur.)

IMMUNITÉ PASSIVE CONTRE LA PROPEPTONE.

Les expériences déjà anciennes de Contejean semblaient avoir définitivement résolu la question de l'immunité propeptonique passive. En effet, Contejean (1) injecte, dans les veines d'un chien B pesant 18 kilogs, 18 cent. cubes de sang d'un chien A auquel il avait préalablement injecté de la peptone. Il constate que le chien B ne réagit plus à l'injection d'une quantité de peptone qui devait être suffisante pour provoquer l'incoagulabilité de son sang. *Le chien B avait donc été immunisé par le sang du chien A.*

De plus, Contejean voit que si on injecte dans le péritoine de chien B le sérum d'un chien A immunisé contre la propeptone, le chien B reste insensible à l'action anticoagulante des albumoses. *Le chien B est donc immunisé par le sérum du chien A.*

Le problème de l'immunité propeptonique semblait donc être résolu.

Plus récemment, Nolf (2), par un procédé différent, arrive à un résultat tout opposé. Il procède de la façon suivante :

Un animal A reçoit une ou plusieurs injections brusques de peptone de Witte. Trois heures après la dernière injection, il est mis en connexion vasculaire avec un chien normal B de même taille. La circulation croisée est maintenue pendant cinq minutes. Après séparation des deux chiens, on les éprouve tous

(1) CONTEJEAN, *Arch. de Physiologie*, 1895, p. 45.

(2) NOLF, *Arch. internal. de Physiol.*, 1904, p. 467.

deux dans leur résistance à l'injection intraveineuse brusque de propeptone.

Le résultat est très net. Le chien A avait gardé toute son immunité, le chien B *ne présentait pas trace d'immunité*.

Il existait donc une discordance entre les résultats *définitifs* de Contejean et ceux de Nolf.

Théoriquement, nous étions enclin à admettre plutôt les résultats de Nolf que ceux de Contejean. Il nous paraissait difficile et même impossible d'admettre que le sérum ou le sang total d'un animal immunisé puisse contre-balancer l'effet nocif d'un antigène chez un animal neuf, si ce sérum ou ce sang ne contiennent pas d'anticorps spécifiques contre cet antigène.

Dans l'expérience de Contejean, on comprend difficilement que le sérum d'un animal immunisé, injecté dans le péritoine d'un chien neuf, puisse être aussi rapidement absorbé pour combattre utilement les effets de la substance anticoagulante. Il est vrai que, dans sa première expérience, l'auteur injecte avec efficacité du sang total provenant d'un animal immunisé dans les veines d'un chien neuf. Là, la diffusion est rapide et le sang immunisé se trouve rapidement en contact avec l'antigène.

Mais, malheureusement, cette dernière expérience est infirmée par les résultats de Nolf. En établissant une circulation croisée entre un chien immunisé et un chien neuf, Nolf constate nettement que le sang du chien immunisé passant dans le torrent circulatoire du chien neuf, n'empêche nullement chez ce dernier animal l'action anticoagulante de la peptone.

Nous avons repris la question en usant des méthodes généralement employées par les bactériologistes qui s'occupent d'immunité.

EFFETS DE L'INJECTION SIMULTANÉE DE L'ANTIGÈNE ET DU SÉRUM IMMUNISÉ

EXPÉRIENCE VI

A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 10 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte lentement, en deux heures de temps, dans les veines, 30 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte

à 10 p. 100. Après la fin de l'injection, on constate que le sang coagule en vingt minutes. On fait alors une saignée de 100 cent. cubes, on centrifuge et on obtient un sérum clair. On vérifie alors que le chien est immunisé, en injectant brusquement 30 cent. cubes de la même solution de peptone. On constate que le sang coagule en dix minutes. L'animal est donc immunisé.

B. — *Recherche de l'immunité passive.*

On prend un second chien de 10 kil. 500, on le fixe sur la gouttière et on lui injecte dans les veines 60 cent. cubes d'un mélange à parties égales de peptone à 10 p. 100 et de sérum immunisé.

Dix minutes après, on fait une prise de sang. On constate qu'il est incoagulable. On fait régulièrement des prises toutes les vingt minutes pendant trois heures. Le sang recueilli ainsi reste incoagulable pendant plus de vingt-quatre heures.

Dans cette expérience, la peptone et le sérum immunisé ont atteint le foie en même temps. La présence de sérum immunisé au niveau de la cellule hépatique n'a nullement empêché cette dernière d'élaborer la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone, et le sérum immunisé n'a exercé aucune action neutralisante sur cette substance une fois formée, puisque les prises de sang faites pendant trois heures après l'injection du mélange ont toujours donné un liquide incoagulable.

RECHERCHE DE L'ACTION PRÉVENTIVE

EXPÉRIENCE VII

A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte lentement dans les veines, pendant deux heures et demie, 36 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. On constate alors que le sang de l'animal coagule normalement. On fait ensuite une saignée de 100 cent. cubes, on centrifuge et on obtient un sérum clair. On vérifie l'immunité du chien en lui injectant la même quantité de solution de peptone que précédemment. On constate que cette injection n'exerce aucune action anticoagulante et que le sang coagule en dix minutes. Le sérum obtenu par centrifugation peut donc être considéré comme un sérum immunisé.

B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 10 kilogrammes, est immobilisé sur une gouttière ; on prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte dans la veine 20 cent. cubes de sérum immunisé et on attend une demi-heure. Deux saignées

faites à la carotide pendant cet intervalle de temps montrent que le sang coagule en neuf minutes.

Après ce temps, on injecte dans les veines 20 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. On fait une prise de sang dix minutes après et on constate que le sang est incoagulable. Des saignées faites pendant deux heures, de demi-heure en demi-heure, fournissent un sang qui reste liquide pendant plus de vingt-quatre heures.

On voit donc qu'une injection de sérum immunisé faite une demi-heure avant l'injection d'une dose toxique de peptone ne protège pas l'organisme contre les effets nocifs de cette substance. En d'autres termes, le sérum d'un chien immunisé contre la peptone ne possède aucun pouvoir préventif contre l'action anticoagulante produite par l'injection de cet albuminoïde.

RECHERCHE DE L'ACTION CURATIVE

EXPÉRIENCE VIII

A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Le sérum de chien immunisé employé dans cette expérience est le même que celui dont on s'est servi dans l'expérience précédente.

B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 11 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte brusquement dans la veine 22 cent. cubes de peptone de Witte à 10 p. 100. Des prises de sang faites de dix minutes en dix minutes, pendant une heure et demie, donnent un sang qui est encore incoagulable après vingt-quatre heures.

Une heure et demie après l'injection de peptone, on injecte dans les veines du chien 22 cent. cubes de sérum immunisé. Dix minutes après, on fait une saignée à la carotide et on constate que le sang est incoagulable, même après vingt-quatre heures. Quelques saignées, faites pendant la durée de l'heure qui suit l'injection de sérum, donnent le même résultat.

Ainsi donc, le sérum d'un animal immunisé contenant de la peptone ne possède aucune action curative vis-à-vis de l'action anticoagulante produite par l'injection de cette substance albuminoïde.

RECHERCHE DE L'IMMUNITÉ PASSIVE
APRÈS UNE INJECTION DE SÉRUM DE LAPIN

On sait que le lapin ne réagit pas à la peptone. Une dose de protéose suffisante pour rendre le sang du chien incoagulable est tout à fait inactive quand on l'injecte dans les veines du lapin. On a dit que le lapin est un animal naturellement immun contre la peptone.

Nous avons cherché si, en opérant comme avec le sérum d'un chien immunisé, on ne pouvait conférer à un chien neut une immunité passive en lui injectant du sérum de lapin.

Nous avons opéré comme il suit :

EXPÉRIENCE IX.

A. — *Préparation du sérum de lapin.*

Un lapin pesant 2 kilog. 500 est fixé sur l'appareil à contention. On prépare la carotide et, à l'aide d'une canule stérile, on saigne l'animal à blanc dans un tube de centrifugeuse. On obtient, après centrifugation, un sérum clair.

B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 14 kilogrammes, est immobilisé sur la gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate, par une saignée préalable à la carotide, que son sang coagule en quinze minutes. On injecte alors dans les veines un mélange composé de 42 cent. cubes de peptone à 10 p. 100 et de 30 cent. cubes de sérum de lapin. Après l'injection, on peut constater l'agitation du chien, la miction d'urine, la baisse de pression, c'est-à-dire tous les symptômes de l'empoisonnement par la peptone. Le sang est incoagulable. Des prises de sang, faites dans le courant des quatre heures qui suivent l'injection, donnent un sang qui reste liquide pendant plus de vingt-quatre heures.

Ainsi donc, le sérum de lapin, animal naturellement immun contre la peptone, ne possède aucune action immunisante quand on l'injecte dans les veines d'un chien.

En résumé, ces quelques expériences viennent confirmer les vues théoriques que nous avons sur l'immunité passive. En effet, étant donnée l'absence d'anticorps dans le sérum des animaux immunisés, il nous était difficile de croire à l'existence d'une immunité passive conférée à un animal neut par l'injection de sérum d'un animal immunisé.

L'expérience a bien prouvé que le sérum des animaux immunisés ne possède aucune propriété, ni préventive ni curative, et qu'il ne peut en aucun cas servir à l'immunisation des animaux neufs.

Quant au sérum de lapin, il est aussi dénué de pouvoir immunisant que le sérum des chiens immunisés. Quelle est la clef de cette immunité naturelle du lapin? C'est là le sujet que nous allons étudier en reprenant des expériences déjà connues et en y ajoutant nos recherches personnelles.

ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ NATURELLE DU LAPIN.

Tous les auteurs qui se sont occupés de l'incoagulabilité du sang provoquée par l'injection de peptone ont vu que, tandis que le chien réagit à cet albuminoïde, le lapin, au contraire, possède une immunité naturelle vis-à-vis de la peptone.

Au cours de nos recherches, nous avons été conduits à reprendre les expériences faites par différents auteurs sur le lapin. Nous rapporterons ici uniquement les expériences dans lesquelles nous avons modifié les conditions normales de l'animal avant de lui injecter la peptone. Elles viendront s'ajouter aux faits déjà vus par les autres auteurs et feront comprendre le mécanisme de l'immunité naturelle du lapin contre la peptone.

Avant tout, nous avons cherché à nous rapprocher le plus possible des conditions expérimentales réalisées dans nos recherches sur le chien. Lorsque nous opérions sur ce dernier animal, nous employions toujours des chiens à jeun. Aussi, nous avons essayé de rechercher si, chez les lapins à jeun, l'immunité naturelle existait toujours.

IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS A JEUN

EXPÉRIENCE X.

Un lapin, pesant 2 kil. 420, est mis à jeun le 13 novembre 1911, à 6 heures du soir. Le 14 novembre, à 9 heures du matin, il pèse 2 kil. 400. Le 15 novembre, il pèse 2 kil. 280. Le 16 novembre, à 1 heure de l'après-midi, il pèse 2 kil. 170. A 1 heure et demie, on l'attache sur l'appareil et on prépare la

carotide. Une saignée préalable montre que le sang coagule en vingt-quatre minutes. On injecte alors brusquement, dans la veine marginale de l'oreille, 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans l'eau physiologique.

Le lapin ne présente ni agitation ni dyspnée. Un quart d'heure après l'injection, une saignée faite à la carotide montre que le sang coagule en sept minutes. Des prises de sang, faites de demi-heure en demi-heure, pendant quatre heures, donnent toujours un liquide qui coagule en un temps variant entre cinq et sept minutes. Après ce temps, on injecte de nouveau à l'animal 1 gramme de peptone; le sang continue à coaguler normalement.

Ainsi donc, un lapin parfaitement à jeun ne réagit pas à une injection de peptone; son sang reste coagulable. Il paraît donc être immunisé contre les effets nocifs des protéoses.

Les lapins en digestion se comportent de même, ainsi qu'on va le voir dans l'expérience qui suit :

IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS EN DIGESTION

EXPÉRIENCE XI.

Un lapin, pesant 2 kilogrammes en pleine digestion, est attaché sur l'appareil à contention. On prépare la carotide. Une saignée préalable montre que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors brusquement, dans la veine de l'oreille, 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans l'eau physiologique. Le lapin ne présente pas les réactions qui s'observent toujours chez le chien intoxiqué par la peptone, et son sang, pris à la carotide, coagule en cinq minutes. Des saignées, faites de demi-heure en demi-heure, pendant deux heures, donnent un sang aussi facilement coagulable. Le lapin en digestion est donc, comme le lapin à jeun, réfractaire aux effets nocifs de la peptone.

IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS PRÉPARÉS PAR DES INJECTIONS D'ALBUMINE D'ŒUF

Nous nous sommes demandé si cette immunité du lapin à la peptone n'était pas due au régime alimentaire de cet animal, tellement différent de celui du chien.

Il était difficile de nourrir un lapin avec des albumines animales; aussi avons-nous tourné la difficulté en injectant périodiquement des lapins avec de l'albumine d'œuf. Cette substance albuminoïde était résorbée par l'organisme du lapin. La preuve de cette résorption était l'apparition, dans le sérum de l'animal

injecté, d'anticorps spécifiques contre le blanc d'œuf. Nous avons ensuite éprouvé ces lapins par des injections de peptone. Voici le protocole d'une de ces expériences :

EXPÉRIENCE XII.

Un lapin est immunisé et préparé pendant un mois contre l'albumine d'œuf. Il reçoit tous les six jours une injection intrapéritonéale de 5 cent. cubes d'albumine d'œuf de poule diluée dans le même volume d'eau physiologique. Cinq jours après la quatrième injection, on fait une petite saignée d'essai à la carotide et on constate que le sérum de l'animal possède un pouvoir précipitant très net sur une émulsion claire d'albumine dans l'eau physiologique. L'organisme du lapin a donc fait le travail de l'absorption d'une certaine quantité d'albumine animale.

On fixe ce lapin sur l'appareil à contention ; on prépare une carotide et on injecte brusquement, dans la veine de l'oreille, 40 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 40 p. 100 dans de l'eau physiologique. Le sang de l'animal, prélevé dans la carotide pendant les deux heures qui suivent l'injection, coagule tout à fait normalement en sept minutes. Le lapin préparé contre l'albumine d'œuf présente, aussi bien que les lapins normaux, une résistance très nette aux effets anticoagulants d'une injection de peptone.

MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ NATURELLE CONTRE LA PEPTONE (1)

L'immunité naturelle du lapin contre la peptone est-elle une véritable immunité ? Autrement dit, le sang du lapin contient-il à l'état normal des anticorps spécifiques capables de neutraliser la substance anticoagulante qui pourrait se former dans le foie après l'injection intraveineuse de peptone ?

Nous avons vu précédemment que le sérum du lapin est incapable de protéger le chien contre le poison anticoagulant fabriqué par le foie du chien. Le sérum du lapin ne peut donc pas conférer au chien une immunité passive. Il ne contient donc pas d'anticorps spécifiques contre la substance anticoagulante.

Si l'on nie la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du lapin, on ne peut expliquer l'indifférence du lapin à la peptone qu'en admettant que le foie de cet animal n'élabore pas de substance anticoagulante sous l'influence d'une injection de peptone.

Le fait peut être facilement démontré en faisant dans le

(1) M^{me} POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXXI, p. 722.

foie d'un lapin une circulation artificielle de sang peptoné. C'est ce que nous avons fait dans l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE XIII.

Un lapin pesant 2 kil. 200 est tué par saignée. On prépare la veine porte et la portion thoracique de la veine cave inférieure. On fixe des canules dans ces deux vaisseaux. On fait passer dans le foie de l'animal 200 cent. cubes d'eau physiologique tiède.

On saigne alors un second lapin, on reçoit 70 cent. cubes de son sang dans une éprouvette graduée contenant au préalable 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 5 p. 100 dans l'eau physiologique. On assure un mélange parfait des deux liquides en retournant l'éprouvette sur la paume de la main.

On fait passer, avec la technique employée pour le chien, le liquide sang-peptone dans le foie du premier lapin. On reçoit le sang qui s'écoule de la veine cave dans une série de six verres. On conserve comme témoin 5 cent. cubes de sang peptoné qui a servi à laver le foie.

Dans les six verres, le sang coagule en sept minutes, aussi bien que celui de l'échantillon témoin. On voit donc que le foie du lapin est incapable de produire une substance anticoagulante sous l'effet de la peptone. Il ne peut donc être question de rechercher dans les humeurs du lapin des anticorps contre un antigène anticoagulant, puisque cet antigène n'existe pas chez cet animal.

Puisqu'il n'existe pas d'anticorps spécifique, il n'existe pas d'immunité *proprement dite* du lapin contre la peptone. Si cet animal est indifférent à l'injection de peptone, c'est que son foie est incapable d'élaborer le poison anticoagulant en présence de cette substance albuminoïde.

MÉCANISME DE LA PSEUDO-IMMUNITÉ DU CHIEN CONTRE LA PEPTONE

DE L'ÉLABORATION DE LA SUBSTANCE ANTICOAGULANTE PAR LE FOIE DU CHIEN IMMUNISÉ.

Dans tout ce qui précède, nous avons vu qu'il n'existait pas, dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone de Witte, d'anticorps spécifiques contre le poison anticoagulant formé par le foie sous l'influence des protéoses. On ne peut donc appeler *immunité* cette réaction de défense de l'organisme.

Ce fait vient s'ajouter à ceux déjà nombreux qui faisaient de l'immunité propeptonique une sorte d'immunité toute spéciale. Albertoni, Schmidt-Mulheim, Grosjean avaient constaté, dès le début de leurs recherches, la brusquerie de l'apparition de l'immunité propeptonique, ainsi que la rapidité de sa disparition.

La fugacité de cette immunité et son apparition immédiate sont contraires à l'évolution de toutes les immunités connues : celles-ci s'établissent insidieusement et persistent fort longtemps après l'immunisation.

De plus, Nolf a bien démontré que le sang d'un chien immunisé injecté à un chien neuf n'empêche pas ce dernier de réagir à la peptone.

Nous-mêmes avons vu que le sérum d'un animal immunisé n'exerce aucune action préventive ni curative sur un animal neuf.

Tous ces faits montrent bien que l'immunité propeptonique n'est pas une immunité *au sens propre du mot* ; elle n'est qu'une *pseudo-immunité*.

Quel est donc le mécanisme de cette pseudo-immunité ? Quelle différence essentielle existe-t-il entre l'organisme d'un chien immunisé et celui d'un chien normal ?

Nous avons vu qu'au point de vue humoral il n'est guère possible d'expliquer le mécanisme de la pseudo-immunité propeptonique. Restait donc à voir si les organes de l'animal immunisé réagissent différemment à la peptone que ceux de l'animal normal.

Il était tout naturel de s'adresser directement à l'étude de la fonction hépatique puisque, tous les auteurs qui s'étaient occupés de cette immunité, avaient remarqué le rôle prépondérant du foie dans l'élaboration de la substance anticoagulante.

Le chien non immunisé élabore, sous l'influence de la peptone, au niveau de sa cellule hépatique, une substance anticoagulante. Une seconde injection de peptone est inactive. Pour expliquer ce fait, on pouvait invoquer deux hypothèses :

1° Après la deuxième injection comme après la première, le foie fabrique de la substance anticoagulante, mais ce poison est neutralisé par des anticorps qui sont apparus dans l'orga-

nisme au moment où celui-ci était sous l'influence de la première injection.

2° La deuxième injection de peptone de Witte reste sans effet, parce que la cellule hépatique est modifiée dans son fonctionnement et n'élabore plus, en présence de la peptone, la substance anticoagulante qu'elle pouvait céder au torrent circulatoire lors de la première injection.

La première hypothèse est à rejeter, car, ainsi que nous l'avons démontré, il n'existe pas d'anticorps spécifiques dans le sérum des chiens immunisés.

La seconde hypothèse était donc seule à envisager.

D'autres auteurs, avant nous, avaient étudié la question de l'état fonctionnel du foie dans l'immunité peptonique. D'après Fano, la cellule hépatique serait épuisée par la première injection de peptone et ne pourrait plus au moment de la seconde injection élaborer de substance anticoagulante.

D'après Nolf, au contraire, le foie fabrique de la substance anticoagulante aussi bien au moment de la seconde injection que de la première. Mais cette substance anticoagulante serait neutralisée, pendant le temps de l'immunité propeptonique, par une substance que Nolf appelle fibrinolysine, sécrétée par les leucocytes et les parois vasculaires.

Cette fibrinolysine, dans les expériences de Nolf, paraîtrait donc agir comme un véritable anticorps, puisqu'elle aurait la propriété de neutraliser l'antigène. Cette hypothèse est contraire aux faits que nous avons avancés, puisque nous n'avons jamais pu mettre en évidence dans le sérum des chiens immunisés de substance neutralisant l'antigène anticoagulant.

Nous avons repris la question au point où elle en était et nous avons tout d'abord recherché, dans une série d'expériences dont nous donnons le type un peu plus loin, ce que devient, chez un chien immunisé, l'activité hépatique au point de vue de la formation de la substance anticoagulante.

EXPÉRIENCE XIV.

A. — *Immunisation du chien.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate que le sang coagule en douze minutes. On injecte alors lentement dans la veine pédieuse 36 cent.

cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les deux premiers centimètres cubes sont injectés par portion de 0 c. c. 5 toutes les dix minutes. Le reste est injecté lentement par portion de 2 cent. cubes. Le temps total de l'injection est de deux heures.

Après la fin de l'injection, le sang coagule en dix minutes. On injecte alors brusquement dans la veine pédieuse 36 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100 et on constate un quart d'heure après que son sang coagule en dix minutes. Le chien est donc immunisé.

B. — *Lavage du foie du chien immunisé.*

Le chien est alors saigné à blanc; on ouvre rapidement le thorax et l'abdomen, on pose une canule sur la veine porte et sur la portion thoracique de la veine cave inférieure; après avoir préalablement lié la veine cave inférieure dans l'abdomen.

On fait passer dans le foie 1 litre d'eau physiologique tiède, puis ensuite on y fait circuler un mélange composé de 200 cent. cubes de sang de chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 5 p. 100.

Le sang qui s'écoule de la veine cave est reçu dans une série de 5 verres. Il se montre dans tous incoagulable après vingt-quatre heures. Un témoin constitué par le sang peptoné qui a servi à laver le foie coagule normalement en dix minutes.

Ainsi donc le foie d'un chien immunisé est capable de produire de la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone. Que devient cette substance chez l'animal immunisé?

D'après Nolf, elle serait neutralisée par la fibrinolysine, poison antagoniste qu'on peut considérer comme un véritable anticorps de la substance anticoagulante. Or, nous n'avons jamais pu mettre cet anticorps en évidence par les méthodes généralement employées pour déceler les anticorps.

Lorsqu'on analyse les expériences de Nolf, on voit que la fibrinolysine ne manifeste que fort peu son action dans le torrent circulatoire, puisque dans son expérience de circulation croisée, lorsqu'elle passe avec le sang du chien immunisé dans la circulation du chien neuf, elle est incapable de protéger ce dernier animal contre l'action nocive de la peptone.

En résumé, nous ne pouvons admettre, d'après ce qu'il vient d'être dit, la neutralisation de la substance anticoagulante par des anticorps circulant dans le sang du chien immunisé. Quel mécanisme doit-on alors invoquer pour expliquer le manque de substance anticoagulante dans le torrent circulatoire d'un

chien immunisé, lorsqu'on lui injecte de la peptone pour une seconde fois ?

Puisque le foie d'un animal immunisé est capable de fabriquer de la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone; puisque cette substance anticoagulante ne peut être mise en évidence dans le torrent circulatoire d'un animal immunisé; puisque, d'autre part, nous avons démontré que cette substance anticoagulante n'était pas neutralisée dans le sang de l'animal immunisé, il était indispensable de vérifier si le foie du chien immunisé laisse sortir au niveau de la veine sus-hépatique la substance anticoagulante qu'il est capable d'élaborer.

Tel est le problème que nous avons cherché à résoudre dans l'expérience qui va suivre (1).

EXPÉRIENCE XV.

A. — *Immunisation du chien.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur la gouttière. On prépare la veine pédieuse. On injecte lentement 36 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les 2 premiers cent. cubes sont injectés par fractions de 0,5 cent. cubes toutes les cinq minutes environ. L'injection totale dure deux heures. On lie la veine pédieuse, on enlève la canule et on pose un point de suture.

On détache alors le chien et on lui injecte sous la peau 12 cent. cubes d'une solution de chlorhydrate de morphine à 1 p. 100. L'animal réagit au poison. Une heure après cette injection, on rattache le chien sur la gouttière, on prépare la carotide, la seconde veine pédieuse et on dénude la jugulaire droite. Une saignée faite à la carotide montre que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors dans la veine pédieuse 36 cent. cubes de peptone à 10 p. 100. Dix minutes après, on fait une saignée à la carotide et on constate que le sang coagule en dix minutes. Le chien est donc immunisé.

B. — *Saignée au niveau de la veine sus-hépatique.*

On donne rapidement du chloroforme au chien précédent. On enfonce dans la jugulaire une sonde urétrale n° 12, en caoutchouc durci, mais très flexible, mesurant 40 centimètres de long et fermée à son bout supérieur par un bouchon en caoutchouc. On fait une laparotomie. On introduit la main droite entre le foie et le diaphragme, on saisit entre le pouce et l'index la veine cave inférieure à ce niveau et, de la main gauche, on pousse

(1) E. POZERSKI et M^{me} POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXXI, p. 723.

à l'aveugle la sonde dans la jugulaire droite. La sonde passe de la jugulaire dans la veine cave supérieure, traverse l'oreillette droite et tombe dans la veine cave inférieure. On sent butter son extrémité inférieure contre les doigts de la main droite.

En éclairant convenablement le champ opératoire, on aperçoit la veine sus-hépatique et on la repère définitivement avec les doigts en remontant sur la veine cave jusqu'au point d'intersection de cette veine avec la veine sus-hépatique. Avec la main gauche, on retire alors lentement la sonde de la veine cave; on la sent glisser entre les doigts de la main droite. A un moment donné, son extrémité inférieure fuit sous les doigts. On exerce alors une pression sur la veine cave au niveau de son intersection avec la veine sus-hépatique; on pousse ensuite la sonde de nouveau en avant. Son extrémité inférieure se trouve en ce moment au niveau de la fourche de la veine cave et de la veine sus-hépatique. Rencontrant la veine cave fermée par les doigts, elle ne trouve chemin libre que dans la direction de la veine sus-hépatique; elle s'y engage à fond. On maintient alors avec les doigts la sonde dans la veine sus-hépatique et, de la main gauche, on enlève le bouchon de l'extrémité supérieure de la sonde. Le sang s'écoule goutte à goutte, mais assez rapidement. On le reçoit dans une série de quatre verres, et on constate que, dans tous, il coagule en quinze minutes.

On voit donc que la *substance anticoagulante ne sort pas du foie.*

C. — *Vérification de l'activité du foie.*

Ce foie de chien immunisé peut-il encore fabriquer de la substance anticoagulante? Oui, nous l'avons établi antérieurement. Cependant, pour que cette expérience soit complète, nous le vérifions sur ce même animal.

On tue le chien par saignée, on ouvre largement le thorax, on pose une canule sur la veine porte et sur la portion thoracique de la veine cave inférieure. On fait passer dans le foie un litre d'eau physiologique tiède, et on fait circuler dans cet organe un mélange composé de 200 cent. cubes de sang pris à la carotide d'un chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone à 5 p. 100.

Le liquide qui s'écoule de la veine cave est reçu dans une série de sept verres. On constate que ce sang est encore parfaitement incoagulable après dix-huit heures. Un témoin, contenant 10 cent. cubes du sang peptoné qui a servi au lavage du foie, coagule en dix minutes.

Ainsi donc, nous nous trouvons en face du fait suivant :

Chez un animal normal, une injection intraveineuse de pep-

l'one fait sécréter au foie pendant plusieurs heures de la substance anticoagulante. Chez un animal immunisé, le foie est parfaitement capable d'élaborer de la substance anticoagulante lorsqu'on fait circuler de la peptone dans cet organe isolé. Mais, pendant la vie de l'animal immunisé, cette substance anticoagulante ne sort pas de la veine sus-hépatique.

Dans cette expérience, nous avons pu mettre en évidence, en faisant une circulation artificielle dans le foie de l'animal immunisé, la preuve de l'existence d'une substance anticoagulante, alors que pendant la vie de l'animal on ne pouvait la déceler dans le torrent circulatoire.

Que se passe-t-il, pendant la vie de l'animal immunisé, lorsque ce dernier reçoit brusquement dans la veine porte une grande quantité de sang peptoné? Nous allons le voir dans l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE XVI.

A. — Immunisation du chien.

Un chien à jeun, pesant 13 kilogrammes, est immobilisé sur une gouttière. On prépare la veine pédieuse. On injecte lentement dans la veine 30 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100. Les deux premiers centimètres cubes sont injectés par portions de 0,5 cent. cubes toutes les cinq minutes. Le reste est injecté lentement en deux heures de temps. On enlève alors la canule de la veine pédieuse après ligature et on fait un point de suture. On détache le chien et on injecte sous la peau 13 cent. cubes d'une solution de chlorhydrate de morphine à 1 p. 100.

Une heure après, on rattache le chien sur l'appareil. On prépare la carotide et la veine pédieuse; on constate que le sang coagule en vingt minutes. On injecte alors brusquement la même dose de peptone que précédemment et on constate que le sang coagule en vingt minutes. Le chien est donc immunisé.

B. — Injection du mélange sang-peptone dans la veine porte.

On chloroformise le chien, on prépare la carotide. On fait une laparotomie et on introduit une canule dans la veine porte seulement. On fait alors passer lentement dans le foie un mélange composé de 200 cent. cubes de sang d'un chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone à 5 p. 100. Cinq minutes après la fin de l'injection, une saignée faite à la carotide donne un sang qui coagule en une heure. Vingt minutes après la fin de l'injection, le sang pris à la carotide coagule normalement en dix-huit minutes.

Ainsi donc, si, au lieu d'injecter à un chien immunisé de la peptone dans le torrent circulatoire, on injecte lentement la masse totale de cette peptone avec du sang de chien neuf dans le foie, on observe que cet organe, capable de fabriquer la substance anticoagulante, laisse passer celle-ci, pendant un temps très court, dans le torrent circulatoire.

Ce fait est à rapprocher de celui que nous avons observé dans chacune de nos expériences sur les animaux immunisés et qui est le suivant :

Lorsqu'on injecte à un animal immunisé une solution de peptone dans la veine pédieuse, on constate, par une saignée faite à la carotide dix minutes après l'injection, que le sang est normalement coagulable. Mais si, au lieu de faire cette saignée dix minutes après l'injection, on la fait une ou deux minutes après celle-ci, on voit que le sang reçu par la carotide subit un retard de coagulation pouvant aller jusqu'à deux ou trois heures.

Dans ce cas, comme dans celui de l'expérience XVII, on voit que l'immunité contre la peptone n'est jamais parfaite et que, dans les quelques minutes qui suivent l'injection massive de peptone à un chien immunisé, le foie laisse passer encore un peu de substance anticoagulante dans le torrent circulatoire. Nous reviendrons ultérieurement sur la signification de ce fait.

En résumé : 1° *Le foie d'un chien immunisé est capable d'élaborer de la substance anticoagulante lorsqu'on y fait circuler le mélange sang-peptone (expér. XIV).*

2° *Le foie de l'animal immunisé ne déverse plus cette substance anticoagulante dans le torrent circulatoire (expér. XV), ce qui explique la pseudo-immunité du chien à la peptone.*

3° *Cette pseudo-immunité, provoquée par une sorte de rétention de la substance anticoagulante par le foie immunisé, n'est pas absolue, puisque, dans les premiers instants qui suivent la seconde injection de peptone, on peut déceler la substance anticoagulante dans le sang de l'animal (expér. XVI).*

CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES SUR LES FAITS ÉTUDIÉS DANS CE TRAVAIL

De tous les faits qui viennent d'être étudiés dans le présent travail, on peut dégager les grandes lignes suivantes :

Lorsqu'on fait à un chien neuf une injection intraveineuse de peptone, le foie de l'animal élabore, sous l'influence de cet albuminoïde, une substance anticoagulante qu'il est facile de mettre en évidence.

Lorsque, après quelques heures, on fait une nouvelle saignée à l'animal, on constate que le sang a repris la faculté de se coaguler en quelques minutes.

Une seconde injection intraveineuse de peptone faite à ce moment exerce encore une action très faible sur l'organisme du chien. En effet, une saignée faite une ou deux minutes après une seconde injection montre que le sang coagule bien plus lentement qu'à l'ordinaire. Mais la présence de la substance anticoagulante n'est que fugace et cinq ou dix minutes après la seconde injection le sang coagule normalement. A ce moment, il n'existe pas de substance anticoagulante en circulation.

Nous avons montré qu'il était impossible d'interpréter la disparition du poison anticoagulant en invoquant sa neutralisation par des anticorps spécifiques.

Les expériences de circulation artificielle du mélange sang-peptone dans le foie d'un chien immunisé montrent que cet organe est capable de produire de la substance anticoagulante, aussi bien que le foie de l'animal non immunisé.

Cependant, ce foie immunisé, capable d'élaborer la substance anticoagulante, ne la déverse pas dans l'organisme du chien, ainsi que nous l'avons démontré, tandis que le foie d'un animal normal abandonne dans le torrent circulatoire sa substance anticoagulante.

Ainsi donc, un chien qui a reçu une injection préalable de peptone présente une pseudo-immunité contre cet albuminoïde, car, après une deuxième injection, son foie, tout en étant capable d'élaborer la substance anticoagulante ne la déverse pas dans la circulation.

Tout autre est le mécanisme de la pseudo-immunité naturelle que présente le lapin à la peptone. En effet, le foie de cet animal est incapable d'élaborer de la substance anticoagulante sous l'influence des protéoses.

Tels sont les faits. Nous avons voulu cependant pousser plus avant notre étude et chercher une explication de ce phénomène de rétention de la substance anticoagulante par le foie du chien immunisé. Deux interprétations se sont présentées à nous.

THÉORIE DE L'ARRÊT DU POISON PAR LE FOIE

Sous l'influence d'une première injection de peptone, le foie du chien normal élabore une certaine quantité de substance anticoagulante capable de manifester son action nocive sur le sang. La quantité totale de peptone est rapidement fixée par le foie, ainsi que l'ont vu les nombreux auteurs qui ont constaté la disparition de la peptone du sang.

Si le foie continuait à rejeter dans la circulation générale la substance anticoagulante qu'il est capable de former, l'organisme ne tarderait pas à en subir les fâcheuses conséquences. Aussi, la cellule hépatique emmagasine la substance anticoagulante formée et ne l'abandonne au torrent sanguin qu'au fur et à mesure de son élimination, c'est-à-dire à des doses assez petites pour que cette substance ne soit pas décelable dans le sang de l'animal.

Comment se fait cette élimination ? Nous ne saurions répondre à cette question d'une façon définitive. Dans de nombreux cas, nous avons démontré, d'une façon irréfutable, l'élimination de la substance anticoagulante par l'urine, pendant les heures qui suivent la première injection de peptone à un chien. L'urine recueillie dans ces cas et ajoutée à un sang normal retardait de plusieurs heures sa coagulation, sans présenter la réaction du biuret, ce qui prouve bien qu'elle ne contenait pas de traces appréciables de peptone. Dans d'autres cas, nous avons été moins heureux et nous n'avons pas pu constater l'élimination de la substance anticoagulante par l'urine.

Quel que soit le mécanisme de l'élimination de la substance

anticoagulante, le fait certain c'est qu'au moment où celle-ci n'existe plus dans le torrent circulatoire, le foie l'a acquise la propriété de retenir la substance anticoagulante qu'il peut former lors d'une seconde injection de peptone. Le foie présente donc une barrière infranchissable à la substance anticoagulante qu'il peut encore former. Cette fonction d'arrêt par le foie, qui est presque absolue pendant la vie de l'animal, devient tout à fait relative lorsque l'animal étant tué, on fait passer dans le foie, préalablement lavé, une dose massive du mélange sang-peptone. Cette conception de la pseudo-immunité peptonique ramène cet état de défense de l'organisme à un phénomène physiologique tout à fait général, connu pour des poisons, tels que le phosphore, l'arsenic, le mercure, etc. : *l'arrêt par le foie des poisons qui menacent d'envahir l'organisme.*

THÉORIE BASÉE SUR L'AUTOLYSE DE LA CELLULE HÉPATIQUE

Le contenu de la cellule hépatique peut être envisagé comme formé de deux parties : d'une part, le protoplasma capable d'élaborer les substances qui caractérisent l'activité de la cellule ; d'autre part, une certaine quantité de ces substances qui sont déjà sorties de ce protoplasma (glycogène, graisses, pigments, etc.). Une de ces substances, de provenance protoplasmique, est la substance anticoagulante. Cette substance existe certainement en dehors de l'action de la peptone, ainsi que l'ont montré Doyon, Morel et Policard.

On peut donc considérer la cellule hépatique à l'état normal comme contenant dans son protoplasma de la substance anticoagulante en voie de formation, et, en dehors de lui, une substance anticoagulante toute formée. Tel est l'état de la cellule hépatique au moment où on fait à un chien neuf la première injection intraveineuse de peptone.

La peptone, par un mécanisme que nous ignorons, provoquerait la sortie de la substance anticoagulante toute formée contenue dans la cellule hépatique en dehors du protoplasma. Cette substance passe dans le torrent circulatoire à doses massives et manifeste son action anticoagulante. La cellule hépatique se trouve ainsi vidée de substance anticoagulante libre et toute formée.

Le protoplasma de la cellule entre alors en activité pour sécréter de nouveau une quantité d'abord infime de substance anticoagulante. Pendant ce temps, la substance qui circule dans le sang est éliminée petit à petit.

Faisons à ce moment une seconde injection intraveineuse de peptone au chien.

Cette substance albuminoïde, arrivant au niveau de la cellule hépatique, se trouve en présence de cette quantité infime de substance anticoagulante toute formée. Elle en provoque la sortie dans le torrent circulatoire et celle-ci manifeste son action pendant une ou deux minutes seulement. Si l'on fait une saignée à l'animal dix minutes, ou plus, après cette seconde injection, le sang coagule normalement; on en conclut à l'existence d'une immunité contre cette seconde injection de peptone.

Mais, en réalité, il n'existe pas d'immunité *au sens propre du mot*. La peptone de la seconde injection trouve tout simplement une cellule hépatique ne contenant plus de substance anticoagulante toute formée.

Comment expliquer alors que, si, à ce moment, on sacrifie l'animal et qu'on lave son foie avec de l'eau physiologique, on obtient de la substance anticoagulante en faisant circuler dans cet organe le mélange sang-peptone?

Pour répondre à cette question, il faut invoquer l'autolyse de la cellule hépatique. En effet, les conditions de l'expérience sur le foie de l'animal mort sont toutes différentes de celles qui sont réalisées chez l'animal vivant. Jacoby a vu qu'il suffit de lier pendant un temps très court la veine porte et l'artère hépatique chez l'animal vivant, pour provoquer dans la cellule hépatique une autolyse telle que, si on enlève les ligatures, les poisons résultant de cet autolyse sont suffisants pour tuer l'animal instantanément.

La cellule hépatique est donc une cellule éminemment fragile. Dès qu'elle est lésée tant soit peu dans son trophisme, elle subit immédiatement une autolyse avancée.

Que se passe-t-il dans l'expérience du lavage du foie d'un animal immunisé? L'animal immunisé est tué par saignée. Cette opération dure plus de dix minutes pour être complète. On procède alors à la laparotomie. Il faut un temps assez long

pour enlever le plastron costal, poser les canules sur la veine porte et la veine cave.

On fait ensuite circuler lentement un litre d'eau physiologique tiède dans le foie. Toutes ces opérations réunies prennent une demi-heure [environ. Pendant ce temps, on a favorisé de toutes les façons possibles l'autolyse de la cellule hépatique. En effet, on sait, d'une part, que le sang et le sérum sanguin sont des éléments qui empêchent l'autolyse; d'autre part, que la température de 40 degrés la favorise. Or, le lavage du foie au moyen de l'eau physiologique tiède enlève la majeure partie du sang de la glande hépatique et laisse la cellule du foie à une température qui favorise l'autolyse.

Nous basant sur l'expérience de tous ceux qui se sont occupés de l'autolyse du foie, nous voyons que la première phase de l'opération de la circulation hépatique artificielle favorise l'autolyse de la cellule. Le mélange sang-peptone que l'on fait passer dans la glande rencontre donc des cellules autolysées, dont le protoplasma s'est déchargé de tout ce qu'il contenait, y compris la substance anticoagulante. La peptone du mélange favorise la sortie de cette substance qui agit immédiatement sur le sang que l'on fait circuler en le rendant incoagulable.

A l'appui de notre thèse, nous pouvons citer de nouveau les expériences de Doyon, Morel et Policard, qui ont obtenu de la substance anticoagulante en faisant passer dans le foie, non plus un mélange de sang-peptone, mais simplement de l'eau légèrement alcaline, après avoir, toutefois, provoqué l'éclatement de la cellule hépatique par des congélations et des dégels successifs au moyen de l'anhydride carbonique liquide.

Comment expliquer alors en invoquant cette hypothèse que le foie, qui ne cède pas de substance anticoagulante au torrent circulatoire lorsqu'on fait une seconde injection à un animal immunisé, en laisse passer une petite quantité lorsqu'on injecte dans la veine porte le mélange sang-peptone et qu'on recherche la substance anticoagulante dans le sang de la carotide (exp. XVI)? Peut-on invoquer là l'autolyse du foie? Il semble que oui, car avant de faire l'injection dans la veine porte il faut pratiquer une laparotomie et un arrêt momentané de la circulation porte. En effet, pour pratiquer cette opération, il

faut poser une ligature sur la veine porte, y introduire une canule et la fixer. Ceci fait, on saigne un chien neuf, on fait le mélange sang-peptone, on l'introduit dans un flacon laveur que l'on met en communication avec la veine porte. Pendant toute la durée de cette manipulation, le foie est privé de la circulation porte. Or, on sait que lorsque la cellule hépatique est privée d'une partie du sang qui la baigne, elle rentre très vite en état d'autolyse.

La légère autolyse qui se produit alors peut expliquer la présence de la substance anticoagulante dans le sang en plus grande quantité qu'après une seconde injection de peptone faite dans les veines d'un chien immunisé, sans qu'on ait préalablement arrêté momentanément sa circulation porte (expér. XVI).

Ainsi donc, nous donnons ici deux interprétations théoriques des faits que nous avons étudiés. Quelle est la plus juste? Il est difficile de se prononcer; peut-être aucune d'elles n'est valable, mais qu'importe; le but de ce travail n'était pas de donner le jour à une théorie nouvelle de l'immunité propeptonique. Nous avons simplement réuni des faits nouveaux qui font sortir cette pseudo-immunité hors du cadre des phénomènes de l'immunité générale et la font rentrer dans celui des processus physiologiques de défense de l'organisme basés sur les modifications fonctionnelles du foie.

CONCLUSIONS.

I. — Lorsqu'on fait à un chien une injection intraveineuse de peptone, l'animal présente des réactions caractéristiques : chute de pression artérielle, agitation suivie de somnolence et incoagulabilité du sang. Le sang redevient normalement coagulable après plusieurs heures.

Une seconde injection, faite au même animal, quand son sang est redevenu normalement coagulable, reste sans effet. On dit que l'animal est immunisé contre la peptone. En réalité, l'organisme du chien devient indifférent non pas à la peptone, mais à la substance anticoagulante élaborée par le foie en présence de la peptone.

Tandis que le chien est très sensible à une première injection de peptone, le lapin, au contraire, est réfractaire à cette substance albuminoïde. Il paraît donc posséder une immunité naturelle contre la peptone.

II. — Le phénomène d'immunité du chien contre la substance anticoagulante formée par le foie, en présence de la peptone, ne peut nullement être rapprochée des phénomènes de l'immunité générale. En effet, ce qui caractérise l'état d'immunité contre un antigène quelconque c'est : 1° un certain temps, plus ou moins long, indispensable à l'immunisation; 2° la persistance de cet état d'immunité pendant un temps assez long; 3° la présence, dans l'organisme immunisé, d'anticorps spécifiques contre cet antigène. Ces anticorps sont de deux sortes : précipitines et lysines; 4° la transmission fréquente de cette immunité à un animal neuf, à la suite d'une injection à ce dernier d'une plus ou moins grande quantité de sérum de l'animal immunisé.

L'immunité propeptonique est tout à fait différente. En effet : 1° elle s'établit très rapidement; 2° elle disparaît très vite; 3° elle est caractérisée par l'absence complète d'anticorps spécifiques contre le poison anticoagulant fabriqué par le foie sous l'influence de la peptone; 4° le sérum d'un chien immunisé ou le sérum d'un lapin naturellement immun contre la peptone sont incapables de protéger un chien neuf contre les effets anticoagulants des protéoses.

III. — L'immunité propeptonique est provoquée par un tout autre mécanisme.

Au moment d'une première injection de peptone, le foie du chien élabore la substance anticoagulante et la laisse passer dans le torrent circulatoire; d'où incoagulabilité du sang.

Au moment de la seconde injection de peptone, le foie du chien est encore capable d'élaborer la substance anticoagulante, mais celle-ci n'est plus déversée dans le torrent circulatoire; d'où manque d'incoagulabilité du sang, c'est-à-dire immunité apparente. Cependant, après la mort de l'animal immunisé, un lavage du foie par un mélange sang-peptone est capable de mettre en liberté une grande quantité de substance anticoagulante.

IV. — Deux interprétations théoriques peuvent être données de ces faits.

1° Le foie de l'animal immunisé serait capable, sous l'influence de la peptone, d'élaborer de la substance anticoagulante, mais la cellule hépatique emmagasinerait cette dernière, comme elle le fait pour d'autres poisons, tels que le phosphore, le mercure, l'arsenic, etc. ;

2° Une première injection de peptone ferait excréter toute la substance anticoagulante libre, contenue dans la cellule hépatique. La seconde injection trouverait une cellule hépatique, vidée de substance anticoagulante toute formée et contenant un protoplasma capable de produire, à la longue seulement, une nouvelle quantité de cette substance. Il est donc tout naturel que cette seconde injection reste sans effet, puisque la cellule hépatique ne possède pas de substance anticoagulante immédiatement libérable.

Le lavage du foie, après la mort de l'animal immunisé, par le mélange sang-peptone, provoquerait une apparition de substance anticoagulante, parce que ce mélange agirait sur une cellule hépatique autolysée, dont le protoplasma a extériorisé tout son contenu, y compris la substance anticoagulante.

V. — Il existe une différence capitale entre l'immunité acquise du chien et l'immunité naturelle du lapin. Dans le premier cas, le foie du chien immunisé est capable de produire encore de la substance anticoagulante, mais celle-ci n'est pas versée dans le torrent circulatoire. Dans le second cas, le foie du lapin est incapable de produire la substance anticoagulante, même sous l'influence d'une première injection de peptone.

VI. — De tout ce qui précède, on voit que l'immunité propeptonique n'est pas une immunité au sens propre du mot ; ce n'est qu'une pseudo-immunité, dont le mécanisme est une modification fonctionnelle de la cellule hépatique.

SUR L'ÉLEVAGE DES TÉTARDS STÉRILES

par le Dr EUGÈNE WOLLMAN.

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

M^{me} O. Metchnikoff (1) s'est occupée la première de l'élevage de tétards dans les conditions d'asepsie parfaite. Dans ses expériences, les tétards stériles restaient plus petits que les tétards témoins, tout en présentant une mortalité beaucoup plus faible que ces derniers. C'est ainsi que sur 7 tétards stériles, 5 vécurent au delà de soixante-trois jours; sur 42 témoins, 7 seulement ont dépassé ce terme. La longueur moyenne des tétards stériles était de 15 millim. 6; celle des témoins de 26,5 millim. Ces derniers d'ailleurs, eux aussi, pouvaient à peine être considérés comme normaux (2). Au bout de quatre-vingts jours, ils ne présentaient que des rudiments de pattes postérieures: normalement, la métamorphose est accomplie à ce moment.

Moro (3) avait obtenu des résultats analogues avec des tétards de crapauds.

Ayant repris les expériences de Bogdanow sur l'élevage de mouches stériles (4), j'ai pu montrer que ces insectes se développent très bien sans le concours des microbes, à condition de ne pas stériliser les aliments à une température trop élevée (5).

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901, vol. XV.

(2) Arrivé à son développement maximal et avant la régression de la queue, le tétard de grenouille rousse mesure 40-42 millimètres. Les pattes postérieures se développent à la fin du premier mois, la métamorphose étant généralement complète au bout de deux mois et demi.

(3) *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, 1905.

(4) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1911, vol. XXV.

(5) Bogdanow stérilisait la viande en chauffant à deux reprises à 134 degrés pendant vingt-cinq minutes. Dans mes expériences, la viande était stérilisée entre 115 et 120 degrés pendant vingt minutes. J'ai obtenu depuis des résultats encore meilleurs en ayant soin de ne pas dépasser 115 degrés. Il n'y a aucun doute que, dans les conditions de ces expériences, le facteur *stérilisation* prime le facteur *stérilité*.

Ce résultat, ainsi que la conviction que les difficultés qui entourent les expériences de ce genre, rendent précaires les conclusions tirées d'élevages non réussis, m'ont amené à reprendre au printemps 1911 les expériences de M^{re} O. Metchnikoff.

Depuis, la question des élevages stériles a fait un grand pas. Dans un travail qui restera une contribution importante à la question de la vie aseptique, Cohendy (1) a montré qu'un vertébré supérieur, le poulet, peut vivre et grandir sans le concours des microbes; les poussins aseptiques ne « viennent » pas moins bien que leurs témoins contaminés; assez souvent même, ils les dépassent en poids (2).

Je vais néanmoins rapporter mes expériences sur les têtards, car elles montrent, comme celles de Cohendy, que les résultats discordants obtenus par les différents auteurs ne sauraient être attribués à la différence des espèces animales étudiées, mais bien plutôt aux conditions des expériences. Placés dans des conditions favorables, les têtards se développent très bien, atteignent la taille maximale et subissent la métamorphose à l'égal des témoins non stériles.

Les œufs de grenouille rousse (*Rana Temporaria*) pondus au laboratoire ou recueillis dans un étang étaient lavés plusieurs fois à l'eau stérile et laissés en paquets dans des cristallisoirs avec de l'eau stérile jusqu'au moment où l'embryon devenait mobile (cinq à six jours à la température de la chambre). On dissociait alors le paquet avec des pinces et des ciseaux et on prélevait un à un les œufs entourés de leur enveloppe muqueuse pour les stériliser.

La stérilisation se faisait soit à l'eau oxygénée (perborate de soude, soit surtout à l'antiformine diluée. Cette substance dissout l'enveloppe muqueuse de l'œuf et avec elle les microbes qu'elle contient. Il faut surveiller très attentivement la désinfection et dès que la membrane extérieure s'éclaircit (et avant que la membrane intérieure soit attaquée, retirer l'œuf de l'antiformine à l'aide d'une grosse pipette stérile et le laver successivement dans 3 ou 4 tubes d'eau stérile. Il arrive malgré tout que la membrane interne et le têtard lui-même soient dissous par l'antiformine. L'eau oxygénée donne de moins bons résultats; le sublimé est à rejeter.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1912, vol. XXVI.

(2) D'autre part, et les poussins stériles et leurs témoins non stériles nourris avec des aliments stérilisés étaient presque constamment inférieurs en poids aux poussins élevés avec des aliments non stérilisés au préalable: il semble donc qu'ici encore l'absence ou la présence des microbes soit un facteur moins important que la stérilisation des aliments et les conditions forcément artificielles des expériences.

J'ai essayé aussi, mais sans réussir, d'avoir des œufs stériles en produisant la fécondation artificielle.

(Pour cela, on ouvrait une femelle sur le point de frayer. On enlevait avec une pince stérile une partie des œufs contenus dans les utérus et on les plaçait à sec dans un cristalliseur stérile. On sacrifiait un mâle, on prélevait le contenu des vésicules séminales, et on le versait sur les œufs. Quatre ou cinq minutes plus tard, on versait de l'eau stérile de manière à recouvrir les vésicules. Ceux-ci se développaient normalement; malheureusement, par ce procédé, je n'ai jamais pu avoir de têtards stériles.)

La membrane interne de l'œuf ainsi stérilisée était déchirée à l'aide de deux aiguilles stériles. Le petit têtard était transporté successivement dans plusieurs tubes d'eau stérile (à l'aide de pipettes stériles, et en changeant de pipette chaque fois).

La dissociation de la membrane interne présente une certaine difficulté; le mieux est de laisser le têtard se placer sur le flanc, de mettre les pointes des aiguilles du côté de la concavité dorsale et de les écarter brusquement l'une de l'autre. La membrane éclate et projette le têtard au dehors.

Après avoir été ainsi lavés, les têtards restaient pendant une semaine environ (quatre jours dans les premières expériences) dans des tubes d'eau stérile. Tout d'abord, ils tombent au fond du tube; le lendemain et le surlendemain, ils montent le long de la paroi et bientôt se mettent à nager activement; l'ensemencement de l'eau au bout de huit jours renseigne donc assez bien sur l'absence ou la présence de microbes. Les têtards qui se sont montrés stériles sont ensuite transportés dans les ballons d'élevage.

DISPOSITIF D'ÉLEVAGE (Fig. 1).

Il consiste : 1° En une série de ballons munis d'une tubulure latérale. Le col du ballon est fermé par un bouchon en caoutchouc à deux orifices et protégé au-dessus et en dessous par des bouchons de coton. Par chacun des orifices passe un tube en verre recourbé à angle droit à son extrémité supérieure, bouchée au coton. L'un de ces tubes plonge au fond du ballon et sert à l'arrivée de l'air. L'autre servant à sa sortie ne dépasse pas la base du col. Le premier de ces tubes est encore muni d'un bouchon en caoutchouc traversé par un petit tube en verre.

2° Un cylindre en cuivre muni d'une tubulure supérieure pour l'arrivée de l'air et de 30 tubes latéraux (portant chacun un tube en caoutchouc fermé à l'aide d'une pince) destinés à sa distribution. Ce cylindre est stérilisé à l'autoclave.

Le courant d'air est fourni par une trompe à eau (à pression). L'air est filtré sur une série de trois gros filtres de coton préalablement stérilisés à l'autoclave avec les tubes de caoutchouc qui les réunissent entre eux et au cylindre distributeur.

Les têtards sont introduits dans les ballons par la tubulure latérale qui,

elle aussi, est bouchée au coton. Aussitôt après, on introduit la nourriture composée d'une pâte de viande et de pain.

La viande est broyée dans un broyeur Latapie. On y ajoute du pain, on distribue en tubes et on stérilise entre 115 et 120 degrés. D'autre part, on stérilise des pipettes cylindriques renfermées dans des tubes à essais bouchés au coton, de telle manière que la pipette (plus longue que le tube) dépasse le bouchon.

Pour prélever de la pâte alimentaire, on retire la pipette avec le bouchon de coton, on la chauffe au-dessus d'un bec Bunsen et on l'enfonce dans le tube contenant la pâte, de manière à boucher celui-ci. Généralement, la dilatation produite par le chauffage suffit pour chasser la quantité voulue de

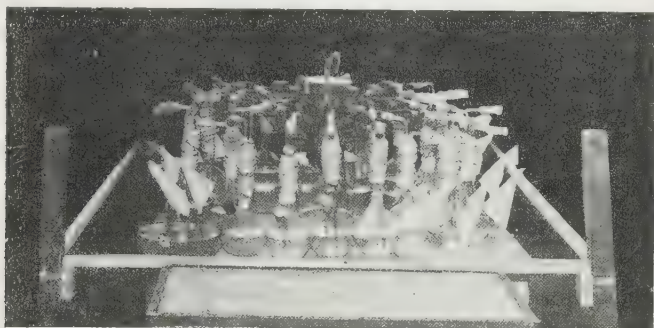


FIG. 1. — Dispositif d'élevage.

viande dans la pipette. La pâte est alors introduite par la tubulure latérale des ballons.

On fait passer un courant d'air deux fois par jour pendant une demi-heure chaque fois.

Pour vérifier la stérilité, on prélève un cent. cube du contenu de chaque ballon et on le dilue avec 10 centimètres cubes de bouillon. Ce bouillon sert à ensemercer sur gélose en surface et sur gélose profonde, ainsi qu'un autre tube de bouillon que l'on garde à la température de la chambre (1).

Les trois tubes (bouillon, gélose inclinée et profonde) correspondant à chaque ballon sont ensuite portés à l'étuve à 37 degrés.

Enfin quelques têtards ont été sacrifiés et leur contenu intestinal examiné microscopiquement.

(1) Les microbes qu'on rencontre sont surtout des microbes de l'eau qui cultivent quelquefois mieux à la température de 20 degrés qu'à celle de 7 degrés.

J'ai fait deux séries d'expériences : une au printemps 1911, l'autre dans le cours du printemps 1912 (1).

En voici les détails :

SÉRIE DE 1911.

I. — Œufs pondus dans la nuit du 5 au 6 mars. Têtards mobiles extraits des œufs le 12 mars; portés dans les ballons (sans vérification de la stérilité au préalable), ils meurent tous à l'exception de deux dans les premiers jours. Ces deux têtards sont ensemencés le 28 mars: l'un se montre contaminé, l'autre est stérile; le stérile meurt le 30 mars.

II. — Œufs pondus le 12 mars; têtards extraits le 18 mars. Conservés en eau stérile jusqu'au 22; sur 44 tubes ensemencés à ce moment, 16 se montrent stériles et sont mis en ballons le 26 mars en même temps que 5 témoins. De plus, 15 témoins sont placés dans un cristallisoir ouvert dans lequel on change l'eau tous les deux jours.

III. — Œufs pondus 15-16 mars; têtards extraits le 21 mars; conservés en eau stérile jusqu'au 25 mars; ensemencés sur bouillon, 29 têtards se montrent stériles et sont mis en ballons le 26 mars; 30 témoins sont placés dans un cristallisoir, tous meurent dans les premiers jours.

Résultats. — Tous les têtards, à l'exception d'un seul, se sont montrés contaminés; celui-ci, âgé d'un mois au moment de l'ensemencement (21 avril), *était aussi grand que les grands témoins et avait les deux pattes postérieures*, (2).

SÉRIE DE 1912 (3).

I. — Têtards extraits des œufs le 29 mars :

72 têtards provenant d'œufs fécondés artificiellement et non désinfectés se montrent tous contaminés.

7 têtards provenant d'œufs désinfectés à l'antiformine se montrent stériles et sont placés dans 5 ballons. Le ballon 2 reçoit 5 témoins.

(1) La grenouille rousse fraie fin février et dans les premiers jours de mars.

(2) Les résultats défectueux de cette série sont dus à plusieurs causes :

1^o Je ne gardais les petits têtards que quatre jours dans l'eau stérile avant de les porter dans les ballons et j'ensemenciais l'eau à un moment où ils étaient encore relativement immobiles; l'ensemencement renseigne donc mal sur la présence ou l'absence des microbes. Beaucoup de ces têtards étaient probablement contaminés dès le commencement, ce qui expliquerait la forte mortalité des premiers jours.

2^o La distribution d'air se faisait à ce moment, non à l'aide du cylindre décrit plus haut, mais d'un long tube en verre portant de nombreux branchements et qu'il était impossible de stériliser par la chaleur.

3^o Enfin le courant d'air était fourni par une bouteille d'air comprimé à 150 atmosphères. La force du courant au moment de l'ouverture et ses irrégularités pourraient bien avoir contribué à la contamination des ballons.

(3) Ces expériences ont été effectuées avec le dispositif décrit plus haut.

Résultats. — Ensemencés le 29 mars, les ballons 1, 3, 5, se montrent stériles; les 4 et 6 sont contaminés.

Ballon 1. 2 têtards stériles, 26 et 29 millimètres.

— 2. 5 témoins morts dans les premiers jours (environ 16 millimètres de long).

— 3. 1 têtard stérile, de 30 millimètres.

— 4. 2 têtards contaminés, de 27 et 28 millimètres.

— 5. 1 têtard stérile, de 28 millimètres.

— 6. 1 têtard contaminé, de 21 millimètres.

II. — Têtards extraits le 9 mars; conservés en eau stérile jusqu'au 15 mars: 60 têtards se montrent stériles, 46 sont transportés dans les ballons (1); 40 sont placés comme témoins dans un cristalliseur.

Résultats. — Ensemencés le 9 mars et encore une fois le 16 mars, les ballons n^{os} 7, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 18, 19 se montrent stériles, les n^{os} 9, 14, 16, 20, 21, 22 sont contaminés.

Ballon 7. 1 pas mesuré.

— 8. 6 morts dans les premiers jours, le plus gros, 16 millimètres.

— 9. 1 têtard, 30 millimètres.

— 10. 1 têtard, 21 millimètres.

— 11. 1 têtard, 21 millimètres.

— 12. 1 pas mesuré.

— 13. 1 têtard, 40 millimètres; pattes postérieures bien formées, mesuré et ensemencé le 23 mars, microscopiquement stérile.

— 14. 6 morts; le plus gros, 25 millimètres.

— 15. 4 pas mesurés.

— 16. 7 morts et décomposés.

— 17. 1 têtard, 32 millimètres, pattes bien formées; microscopiquement stérile;

— 18. 3 têtards, 28, 26 et 20 millimètres.

— 19. 1 têtard, 35 millimètres (à l'examen microscopique, contaminé).

(1) Comme les têtards contaminés fortement ne survivent pas dans les ballons, on n'y met pas de témoins; ce sont les têtards qui se montreront contaminés par la suite qui serviront comme tels.

- Ballon 20. 5 têtards, le plus gros, 32 millimètres.
 — 21. 1 têtard, 32 millimètres.
 — 22. 6 têtards morts et décomposés.



FIG. 2. — Trois têtards témoins de 22, 32, 28 millimètres de long.



FIG. 3. — Têtards stériles n^{os} 13 et 17 de 40 et 32 millimètres de long.

Le plus gros des témoins qui se trouvaient dans le cristalliseur, mesurait, le 16 mars, 32 millimètres (fig. 2); le 23 mars, c'est-à-dire au moment où le n^o 13 a été mesuré, le plus gros des témoins mesurait 36 millimètres (1).

(1) Dans un cristalliseur contenant des têtards non stériles provenant de l'élévation du 29 février. Le plus grand mesurait 40 millimètres. Transportés dans un cristalliseur incliné de manière à présenter une partie à sec, plusieurs de ces têtards se sont transformés en grenouilles.

La taille des témoins est d'ailleurs assez variable ; c'est ainsi que, dans un cristallisoir contenant 40 têtards témoins, on trouve :

6 têtards de 35 à 36 millimètres environ.

24 têtards de 20 à 28 millimètres environ.

10 têtards de 18 millimètres environ.

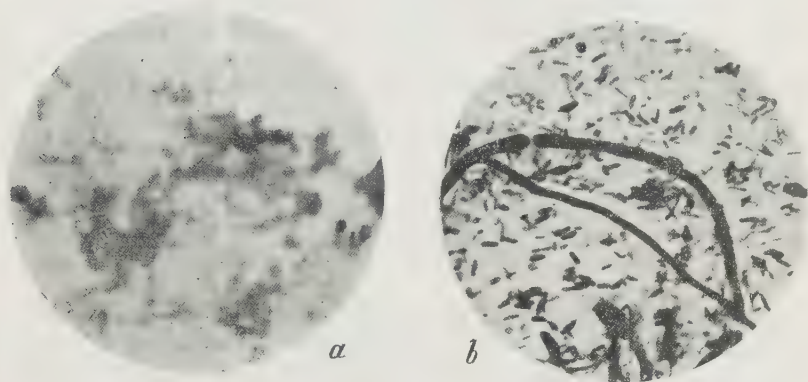


FIG. 4. — Frottis faits avec le contenu intestinal du têtard stérile n° 13 (a) et d'un têtard témoin (b).

Ces données montrent que les têtards stériles placés dans de bonnes conditions se développent aussi bien que les témoins.

On doit donc considérer comme acquis ce fait que *les animaux appartenant aux groupes les plus divers (1) peuvent se nourrir et se développer normalement sans le concours des microbes.*

(1) En ce qui concerne les mammifères, les données expérimentales insuffisantes de Nuttall et Thierfelder, sur les cobayes nouveau-nés, sont amplement complétées par les études de Metchnikoff et de ses élèves sur la roussette adulte dont l'intestin est normalement très pauvre en microbes. Tout dernièrement Kuster, à Freiburg, a pu élever stérilement un chevreau pendant 12 jours ; le poids de cet animal stérile a augmenté plus que celui de son témoin. *Tagung der Freien Vereinigung f. Mikrobiologie Sitzung ; V, 30 mai 1912.*

NOUVELLES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA
VACCINATION DES BOVIDÉS CONTRE LA TUBERCULOSE
ET SUR LE SORT DES BACILLES TUBERCULEUX
DANS L'ORGANISME DES VACCINÉS

par A. CALMETTE et C. GUÉRIN.

(Institut Pasteur de Lille.)

I. — EXCRÉTION DES BACILLES TUBERCULEUX
PAR LES VOIES BILIAIRES.

Dans un précédent mémoire (Ces *Annales*, septembre 1911), nous avons montré que les bovidés, hypervaccinés par injections intraveineuses de doses considérables (jusqu'à 200 milligrammes) de bacilles bovins cultivés en séries successives sur bile de bœuf, deviennent susceptibles d'éliminer en nature, avec leurs excréments, une partie des bacilles tuberculeux *virulents* qu'on leur introduit dans les veines en vue d'éprouver leur tolérance.

Nous avons également constaté que cette élimination par l'intestin s'observe chez les bovidés tuberculeux.

Il nous parut alors probable que les bacilles tuberculeux véhiculés dans les humeurs de l'animal devaient être partiellement expulsés au dehors par les voies biliaires.

Cette hypothèse était basée sur d'autres expériences, antérieurement publiées par nous (1) et qui, bien qu'effectuées sur un animal assez peu réceptif, le lapin, nous avaient permis de retrouver fréquemment des bacilles dans la vésicule biliaire après inoculation intraveineuse.

Mais nous avons jugé utile d'effectuer la même recherche chez les bovidés, en raison de ce fait que la question présente une grande importance pour la prophylaxie antituberculeuse.

(1) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 8 mars 1909.

Si les bœufs tuberculeux ou si les bovidés qu'on a soumis à des inoculations de bacilles vaccinaux, suivant les méthodes déjà connues, éliminent de temps en temps, ou fréquemment, soit des bacilles provenant de leurs lésions fermées ou occultes, soit une partie des bacilles virulents d'épreuve qu'on leur a injectés pour éprouver les limites de leur tolérance, il y a lieu de considérer ces animaux comme aptes à propager l'infection tuberculeuse dans les étables, ou hors de celles-ci, par leurs excréments.

L'expérience ne pouvait être entreprise qu'à condition de disposer de bovidés sains, *porteurs d'une fistule biliaire permanente*. Nous avons pu la réaliser grâce à l'obligeant concours de M. le professeur Kaufmann d'Alfort, et de son chef des travaux M. Magne, que nous ne saurions trop remercier de leur extrême amabilité.

Chez deux génisses laparotomisées, la vésicule biliaire fut abouchée à la paroi abdominale au moyen d'une grosse canule à double pavillon, placée à demeure. Le pavillon extérieur, pourvu d'un bouchon métallique, permettait de puiser à volonté, directement dans la vésicule, à l'aide d'une pipette, la quantité de bile nécessaire à nos inoculations d'épreuve. Les génisses restèrent en parfaite santé pendant toute la durée de nos recherches.

L'une d'elles (n° 1, âgée de dix mois) reçut le 15 janvier 1912, dans la veine jugulaire, 10 milligrammes de culture de tuberculose humaine en émulsion fine. La veille et pendant les cinq jours qui suivirent l'inoculation, puis ensuite tous les cinq jours jusqu'au 15 mars, on recueillit le matin, dans la vésicule biliaire, une petite quantité de liquide avec lequel on inocula chaque fois quatre cobayes sous la peau de la cuisse (0 c. c. 5 de bile à chaque animal).

Deux mois plus tard, il restait cinquante-quatre cobayes dont aucun ne présentait de traces de tuberculose.

Le 16 mars, la génisse demeurée parfaitement bien portante reçut encore 10 milligrammes de tuberculose humaine dans la veine jugulaire. Pendant les cinq jours qui suivirent, puis ensuite tous les cinq jours, on recueillit une pipette de bile et on inocula, comme précédemment, chaque fois 0 c. c. 5 à quatre cobayes.

Deux mois plus tard, un cobaye inoculé quarante-huit heures après la génisse, et trois autres inoculés le cinquième jour, furent trouvés tuberculeux; soixante et un autres étaient indemnes.

Parallèlement et aux mêmes dates, quatre cobayes furent inoculés sous la cuisse avec 1 cent. cube d'une dilution de 1 gramme d'excréments de la génisse dans 10 cent. cubes d'eau stérile. Deux cobayes, inoculés avec cette dilution dix jours après l'inoculation de la génisse, devinrent tuberculeux. Les autres sont restés indemnes.

Le 15 mai 1912, la génisse reçut une troisième fois 10 milligrammes de tuberculose humaine, toujours par voie intraveineuse. Pendant les cinq jours sui-

vants, et ensuite tous les cinq jours, on inocula *quatre cobayes* avec chaque prise de bile, selon la même technique.

Deux mois plus tard, un seul cobaye inoculé deux jours après la génisse est trouvé tuberculeux; cinquante-six autres sont indemnes.

Le 16 juillet 1912, la génisse reçoit une quatrième et dernière fois 10 milligrammes de tuberculose humaine dans la veine jugulaire. On l'abat deux jours après, le 18 juillet. L'animal était en bon état d'embonpoint et son autopsie, faite avec la plus grande attention, ne permet de déceler *aucune lésion tuberculeuse*. Tout le contenu de la vésicule biliaire est soigneusement recueilli et inoculé sous la peau de la cuisse de *seize cobayes* (0 c. c. 5 à chaque animal). L'un d'eux meurt sept jours après l'inoculation. Deux mois plus tard, *cinq* des *quinze* cobayes restants sont trouvés tuberculeux.

On peut se demander pourquoi, au cours de cette longue expérience, un petit nombre de cobayes (seulement 12 sur 260, soit 4,6 p. 100) sont devenus tuberculeux, alors que la génisse a reçu au total dans les veines 40 milligrammes de bacilles humains! Mais il faut considérer que la quantité de bile introduite sous la peau de chaque animal était minime (0 c. c. 5; le cobaye ne peut en tolérer davantage), si on la compare au volume énorme (*environ 2 litres*) de ce liquide qui est excrété par la génisse en vingt-quatre heures!

La même observation s'applique aux cobayes inoculés avec 0 c. c. 1 d'excréments. Cette quantité est infime si on la rapporte à celle émise par la génisse en vingt-quatre heures, et qui est d'environ 7 à 8 kilogrammes.

Il est intéressant de remarquer qu'après la première inoculation de 10 milligrammes de tuberculose humaine, il n'a pas été possible de déceler la présence de bacilles dans la bile de la génisse. La raison en est peut-être que la faculté d'élimination ne se manifeste que lorsque s'est établi cet état particulier de tolérance de l'organisme qu'on peut considérer comme une sorte d'immunité à l'égard des réinfections tuberculeuses.

Cette « rétention » des bacilles tuberculeux, d'origine humaine ou atténués, dans l'organisme des bovidés qui les reçoivent *pour la première fois*, s'observe également chez les bovidés *sains* qu'on infecte expérimentalement avec une dose de bacilles d'origine bovine suffisante pour déterminer une maladie aiguë rapidement mortelle. Nous avons montré en effet, dans un précédent mémoire (1), que de tels animaux peuvent émettre

1) Ces *Annales*, 1911, p. 639.

des bacilles en nature avec leurs excréments dès après le début de la phase fébrile et jusqu'à la mort, alors que, pendant toute la période apyrétique de l'infection, on ne constate l'élimination d'aucun bacille.

Notre deuxième génisse, portant une fistule biliaire permanente, nous permet d'en fournir une nouvelle preuve :

Cette génisse (n° 2, âgée de dix mois) reçoit dans les veines 3 milligrammes de tuberculose bovine virulente (souche lait, de Nocard). La veille de l'inoculation et tous les jours qui suivent, on recueille le matin, dans la vésicule biliaire, une pipette de bile. *Quatre cobayes* reçoivent chaque jour, sous la peau de la cuisse, 0 c. c. 5 de ce liquide.

La température de la génisse reste normale pendant les seize premiers jours, puis elle s'élève brusquement et reste constamment au-dessus de 40 degrés jusqu'au 28^e jour après l'inoculation, jour de la mort de l'animal.

Tous les cobayes sont examinés et sacrifiés deux mois plus tard. Aucun de ceux, au nombre de *soixante-dix-huit*, inoculés du 1^{er} au 19^e jour après l'inoculation de la génisse, n'est trouvé tuberculeux.

A partir de cette date, on relève les résultats ci-après :

2 cobayes tuberculeux sur 4 inoculés le 20 ^e jour. .					
1 cobaye	—	sur 4	—	le 21 ^e	—
0 cobaye	—	sur 4	—	le 22 ^e	—
2 cobayes	—	sur 3	—	le 23 ^e	—
0 cobaye	—	sur 4	—	le 24 ^e	—
2 cobayes	—	sur 4	—	le 25 ^e	—
4 cobayes	—	sur 4	—	le 26 ^e	—
4 cobayes	—	sur 4	—	le 27 ^e	—

Il n'est donc pas douteux que, pendant la période aiguë fébrile de l'infection granulique, les bacilles soient éliminés en grand nombre par la voie hépatique.

En conséquence, nous croyons suffisamment démontré ce fait que *les bovidés porteurs de lésions tuberculeuses fermées ou occultes, ou rendus tolérants par une vaccination préalable, soit avec des bacilles atténués, soit avec des bacilles d'origine humaine, peuvent éliminer par la voie hépato-intestinale une quantité plus ou moins grande de bacilles qui, selon leur origine et leur degré de virulence, sont susceptibles de constituer une source permanente de virus dangereux pour les bovidés ou pour les hommes sains obligés de vivre dans des conditions qui ne les mettent pas à l'abri de la contamination par les excréments bacillifères.*

II. — RÉTENTION DES BACILLES TUBERCULEUX DANS LES GANGLIONS LYMPHATIQUES CHEZ LES VACCINÉS.

Dans un travail antérieur (Ces *Annales*, 1908, p. 689-703), nous avons établi que, lorsqu'on injecte par *voie intraveineuse* des bacilles virulents d'épreuve à des bovidés rendus expérimentalement tolérants, ces bacilles ne produisent aucune lésion évolutive, et les animaux qui les portent gardent toutes les apparences d'une santé parfaite. Souvent même ils ne réagissent pas à la tuberculine. Mais si l'on vient à sacrifier ces bovidés après six ou huit mois, on constate que leurs ganglions bronchiques et médiastinaux renferment encore des bacilles vivants et virulents, décelables seulement par l'inoculation au cobaye.

Dans l'expérience réalisée en 1906, à Melun, par Vallée et Rossignol (1), en vue d'éprouver la valeur de la méthode de vaccination proposée par von Behring, on avait observé déjà que, chez quatre des veaux vaccinés et éprouvés par *voie intraveineuse*, les ganglions bronchiques étaient encore virulents après cent soixante-huit jours et que chez deux autres il existait même des lésions macroscopiquement visibles des ganglions annexes du poumon.

Tous les procédés de vaccination qu'on a essayés depuis ont conduit aux mêmes résultats et il n'est cependant pas niable que plusieurs d'entre eux s'affirment efficaces dans une certaine mesure, c'est-à-dire qu'ils peuvent conférer aux bovidés une résistance plus ou moins durable, mais manifeste, aux réinfections naturelles ou provoquées.

Nous avons pensé que cette résistance, ou si l'on veut cette tolérance à l'égard des bacilles virulents de réinfection, résultait de ce que les bovidés vaccinés, ne pouvant faire disparaître ces bacilles par les processus de digestion intracellulaire, avaient acquis la faculté de les éliminer lentement hors de l'organisme et, d'après ce que nous avons observé chez certains de nos bovidés vaccinés, nous étions portés à croire que l'immunité cessait lorsque cette élimination était entièrement accomplie.

(1) *Bulletin de la Société de médecine vétérinaire pratique*, mars 1906.

Les expériences qui suivent ont été entreprises en vue de déterminer la durée de la période de « rétention » des bacilles virulents d'épreuve dans les ganglions lymphatiques des bovidés soumis à notre méthode de vaccination par injections intraveineuses de bacilles bovins atténués par cultures en longues séries successives sur bile de bœuf glycinée.

Huit génisses bretonnes, âgées de neuf mois, ne réagissant pas à la tuberculine, reçoivent dans les veines, à un mois d'intervalle, respectivement 1 et 5 milligrammes de culture de bacille bovin des 33^e et 34^e passages sur bile de bœuf.

Trente jours après la seconde inoculation, ces animaux sont éprouvés, en même temps qu'un témoin neuf du même âge et du même lot, par l'inoculation intraveineuse de tuberculose bovine virulente (souche lait, Nocard).

Le témoin présente le tableau clinique ordinaire : le 16^e jour, la température s'élève brusquement et se maintient à 40 degrés jusqu'à la mort, survenue le 34^e jour après l'inoculation.

Aucune des huit génisses vaccinées ne manifeste la moindre hyperthermie. Elles restent parfaitement bien portantes.

Sept d'entre elles sont respectivement abattues un mois, deux mois, trois mois, quatre mois, huit mois, douze mois, dix-huit mois après l'épreuve. A chaque autopsie, les ganglions bronchiques sont prélevés, triturés en totalité et le triturat injecté sous la peau de la cuisse de douze cobayes qui sont examinés et sacrifiés après deux mois.

Les résultats des autopsies et des inoculations sont consignés dans le tableau ci-dessous :

N ^o des GÉNISSES	ABATAGE	AUTOPSIE	INOCULATIONS aux COBAYES
60	1 mois apr. l'épreuve.	Indemne de tuberculose.	Tous tuberculeux.
61	2 mois Id.	Id.	Id.
62	3 mois Id.	Id.	Id.
63	4 mois Id.	Id.	Id.
64	8 mois Id.	Id.	Id.
65	12 mois Id.	Id.	Id.
66	18 mois Id.	Id.	Id.
67	Témoin mort en 34 jours.	Granulie massive.	

On voit par cette série d'expériences que toutes nos génisses vaccinées ont conservé, vivants et virulents, dans leurs ganglions bronchiques, des bacilles d'épreuve, et ce jusqu'à dix-

huit mois, sans que jamais ces bacilles aient manifesté leur présence, dans l'organisme de ces bovidés, par une lésion tuberculeuse évolutive. L'autopsie de chacun d'eux, faite avec le plus grand soin, n'a jamais permis de déceler, dans les différents groupes ganglionnaires, la moindre trace de tubercules, non plus que dans les différents viscères et dans les poumons.

Il nous restait une huitième génisse ayant subi le même traitement que les précédentes. Tuberculinée dix-huit mois après l'épreuve d'inoculation virulente, elle ne réagit pas, bien qu'elle soit, sans aucun doute, elle aussi, porteuse de germes dans ses ganglions. Nous lui injectons alors une seconde fois dans les veines 3 milligrammes de tuberculose bovine virulente (souche lait, Nocard). A aucun moment, pendant les trente jours qui ont suivi cette nouvelle épreuve, l'animal n'a présenté d'hyperthermie. Sa santé au bout de trois mois est encore parfaite.

* . *

De ces faits expérimentaux nous devons donc conclure que *lorsque les animaux vaccinés par injections intraveineuses de bacilles bovins atténués par cultures en séries sur bile de bœuf glycerinée*, selon la technique que nous avons décrite, *viennent à être infectés par une inoculation d'épreuve intraveineuse* (mortelle en quatre à cinq semaines pour les témoins), *ils restent en parfait état de santé, mais conservent pendant de longs mois (jusqu'à dix-huit mois dans nos expériences) une partie de ces bacilles vivants et virulents dans leurs ganglions lymphatiques* (bronchiques principalement). *Une autre partie de ces bacilles d'épreuve est expulsée peu à peu de l'organisme et évacuée au dehors avec les déjections, ainsi que l'atteste l'inoculation de celles-ci au cobaye.*

Nos expériences antérieures de vaccination par les voies digestives au moyen de faibles doses de bacilles bovins normaux, virulents, nous ayant montré que l'immunité cesse dès que les bovidés ne sont plus porteurs de bacilles, nous sommes donc fondés à penser que l'état de vaccination ou de tolérance à l'égard du virus tuberculeux n'existe et ne persiste que chez les animaux dont l'organisme héberge quelques bacilles.

On peut croire qu'il en est de même pour l'espèce humaine, et on s'explique ainsi qu'une atteinte légère d'infection tuberculeuse, surtout si elle s'est produite dans le jeune âge, suffise si fréquemment à préserver l'homme contre les effets graves des réinfections successives et fréquentes auxquelles l'expose la cohabitation continue avec des malades phthisiques.

Il semble qu'il y ait de grands avantages à choisir, pour vacciner les bovidés, — seul but que nos recherches actuelles envisagent, — une race de bacilles d'origine bovine, mais suffisamment atténuée pour que l'organisme les tolère facilement, même à doses considérables, et pour qu'ils ne puissent en aucun cas produire de lésions tuberculeuses. Celui que nous utilisons répond pleinement à ces conditions. Il est entièrement avirulent pour le bœuf, avirulent aussi pour le singe, ainsi que Besredka a bien voulu s'en assurer avec nous. Il est inoffensif même pour le cobaye. Et cependant il confère aux bovidés une résistance durable aux inoculations d'épreuve faites par voie intraveineuse.

Il nous reste à préciser la durée de cette résistance vis-à-vis de la contamination naturelle par cohabitation continue avec des bovidés tuberculeux. C'est ce que nous étudions actuellement; mais les résultats de ces recherches ne pourront être établis qu'après plusieurs années.

DE L'ACTION DU SÉRUM ANTITYPHIQUE DE BESREDKA SUR L'ÉVOLUTION DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE

par MM. les D^{rs}

CH. ANDRIESCU
Médecin lieutenant-colonel.

M. CIUCA
Médecin-lieutenant.

(Hôpital militaire « Regina Elisabeta » Service des maladies contagieuses.)

R. Pfeiffer et Bessau contrôlant, en 1910, l'action antiendotoxique du sérum antityphique de Besredka, ont constaté l'influence remarquable de ce sérum sur l'intoxication typhique. Ils ont réussi, entre autres, à neutraliser, avec une certaine dose de sérum, jusqu'à neuf doses mortelles d'endotoxine.

Le fait était surtout évident quand ils injectaient préalablement une petite quantité de bouillon dans le péritoine des cobayes. Dans ces conditions, une dose de 3 cent. cubes de sérum suffisait pour neutraliser jusqu'à 150 milligrammes de corps de bacilles morts.

Nous sommes reconnaissants à M. Besredka d'avoir voulu mettre à notre disposition une assez grande quantité de son sérum et de nous avoir ainsi permis d'étudier l'action de ce dernier sur l'évolution de la fièvre typhoïde chez l'homme et particulièrement sur l'élimination des bacilles typhiques.

La question était d'autant plus intéressante que la mortalité des typhiques varie, en Roumanie, de 10 à 20 p. 100, et le nombre des porteurs de germes de 6 à 10 p. 100.

Étant donné le caractère septicémique de cette maladie, nous avons employé presque constamment de grandes doses de sérum, variant de 40 à 500 cent. cubes (en trois ou quatre injections consécutives).

Les recherches ont porté sur 17 cas, choisis parmi les plus graves.

Nous avons toujours commencé par vérifier le diagnostic clinique par l'hémoculture et la séroréaction de Widal; le sang,

reçu directement dans de la bile de bœuf stérilisée, était réensemencé vingt-quatre heures plus tard, en bouillon. Nous avons fait ensuite toute la série des passages sur différents milieux, pour établir l'identité des microorganismes isolés et nous avons complété la série des épreuves par l'agglutination des germes isolés avec le sérum antityphique très dilué (1/80.000).

Dans un seul cas, les cultures du sang ont été stériles; dans tous les autres cas, nous avons cultivé le bacille d'Eberth.

Les injections de sérum étaient faites d'habitude sous la peau; nous avons employé également la voie veineuse dans 2 cas particulièrement graves. Dans 1 seul cas (en convalescence), nous avons administré le sérum par la bouche pendant cinq jours de suite, aux doses journalières de 10 cent. cubes.

Presque dans tous les cas, le traitement sérothérapique fut accompagné du traitement classique (bains froids, antiseptiques intestinaux, liquides en quantité, etc.). Des phénomènes graves de myocardite et d'hémorragie intestinale nous ont déterminés à appliquer exclusivement le traitement sérothérapique. Dès que les malades sont entrés en convalescence, nous avons constamment cherché à nous convaincre, par des examens bactériologiques répétés, de la présence ou de l'absence des bacilles typhiques dans les fèces. Les ensemencements étaient faits en boîtes de gélose contenant 5 p. 100 de *Fel tauri inspissatum* (extrait de bile, préparé par la maison Merck). Vingt-quatre heures plus tard, les colonies suspectes transparentes étaient repiquées sur différents milieux dans le même but d'identification du bacille.

Un court exposé de nos observations clinique fera ressortir une série de faits assez importants pour qu'ils soient pris en considération.

OBS. I. — Petr. Gh., soldat, 5^e bataillon de pionniers, entré au service des maladies contagieuses, le 13 juin. Il avait contracté la maladie quinze jours avant. Forme clinique moyenne.

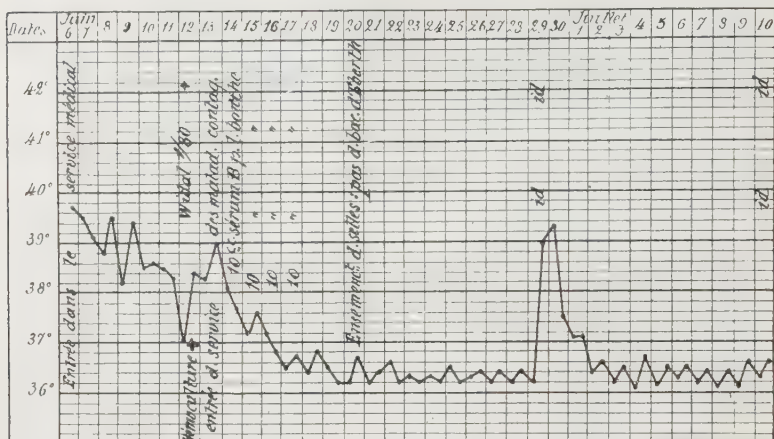
12 juin. — Hémoculture positive; Widal 1/80 positif.

14, 15, 16, 17 juin. — 10 cent. cubes de sérum par la bouche dans du lait tiède, chaque jour.

20 juin. — Ensemencements des selles : pas d'Eberth.

Le même résultat négatif, le 29 juin et le 10 juillet.

11 juillet. — Le malade quitte le service complètement guéri. Il n'a pas eu de phénomènes sériques.



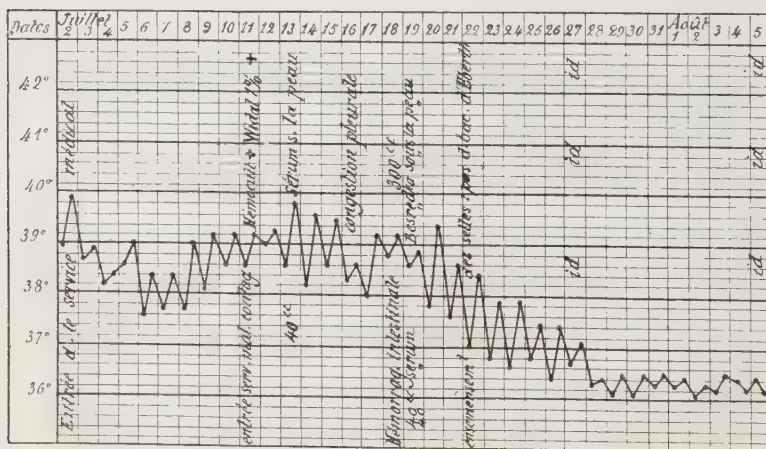
L'ascension thermique du 29 juin a été provoquée par l'injection, dans le canal rachidien, d'une quantité de 5 cent. cubes de sérum physiologique 9 1/2 p. 100.

Obs. II. — D. O..., sergent-major, 5^e bataillon de pionniers, entre au service des maladies contagieuses, le 11 juillet. Le malade a contracté, quinze jours auparavant, une fièvre typhoïde, forme grave ataxo-adyynamique, avec délire.

11 juillet. — Hémoculture : le bacille typhique ; Widal 1 p. 100, agglutination intense.

13 juillet. — 40 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau.

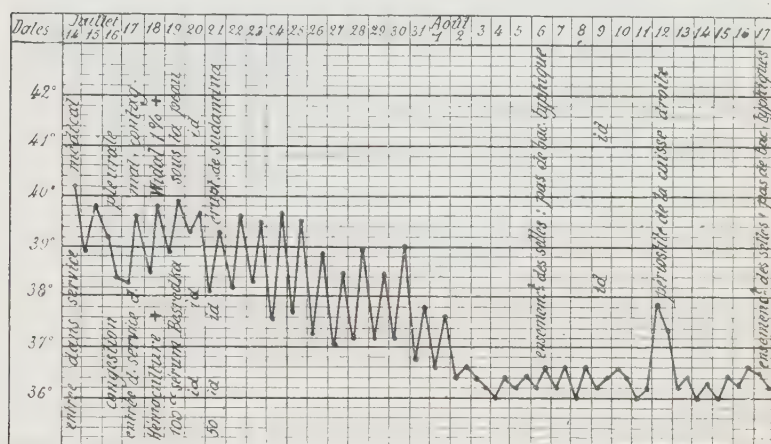
14 juillet. — Amélioration évidente de l'état général.



- 16 juillet. — Un foyer de congestion pleurale commence à la base droite.
 18 juillet. — Hémorragie intestinale (300 cent. cubes).
 19 juillet. — 40 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau; le soir, on répète la dose. Après ces deux injections, l'hémorragie a complètement cessé.
 22 juillet. — Hémoculture stérile.
 22 juillet, 5 et 14 août. — Lesensemencements des selles sont négatifs.
 25 août. — Complète guérison sans phénomènes sériques.

Obs. III. — Gh. D..., 2^e bataillon de chasseurs, entre dans le service le 17 juillet, le neuvième jour de la maladie. Le malade avait contracté une forme excessivement grave ataxo-adyynamique avec délire, myocardite et une double congestion pleurale.

- 18 juillet. — Hémoculture positive; Widal 1 p. 100, positif.
 19 et 20 juillet. — 100 cent. cubes sérum Besredka sous la peau.
 21 juillet. — 50 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau.



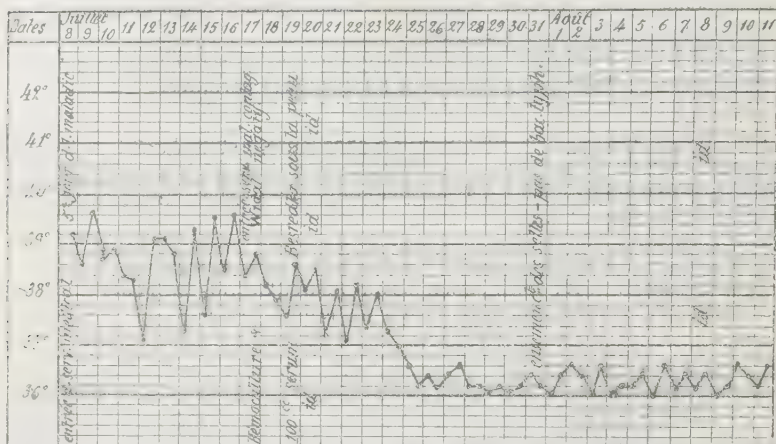
Au total, le malade a reçu 250 cent. cubes de sérum. On remarque une amélioration évidente de l'état général; la température n'a pas baissé.

- 6, 9, 14, 26 août. — Lesensemencements des selles sont négatifs.
 12 août. — Périostite de la cuisse droite qui cède assez facilement après quelques jours.
 28 août. — Le malade, complètement guéri, quitte le service sans avoir eu des phénomènes sériques.

Obs. IV. — D. I..., sergent, 2^e escadron du train, entre dans le service des maladies contagieuses le 17 juillet. Il avait contracté sa fièvre typhoïde dix-sept jours avant, présentant une forme très grave ataxo-adyynamique.

- 17 juillet. — Hémoculture positive; Widal négatif.
 19, 20 juillet. — 100 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau.
 La température commence à baisser; l'état général devient beaucoup meilleur.

31 juillet, 8 et 13 août. — Ensemencements des selles : pas de bacilles d'Eberth.



16 août. — Le malade quitte le service complètement guéri. Il n'a pas eu de phénomènes sériques.

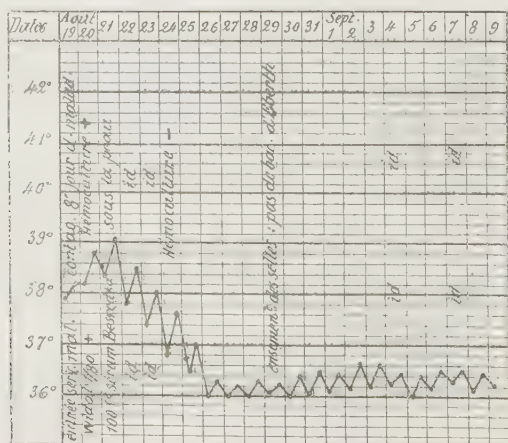
Obs. V. — M. I..., soldat, 2^e bataillon de chasseurs, entre au service le 19 août, au huitième jour de sa fièvre typhoïde. Il présente une forme assez bénigne.

20 septembre. — Hémoculture positive ; Widal 1/80 positif.

21, 22 et 23 septembre. — 100 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau.

24 septembre. — Hémoculture négative.

L'abaissement de la température, ainsi que l'amélioration évidente de l'état général, sont très prononcés.



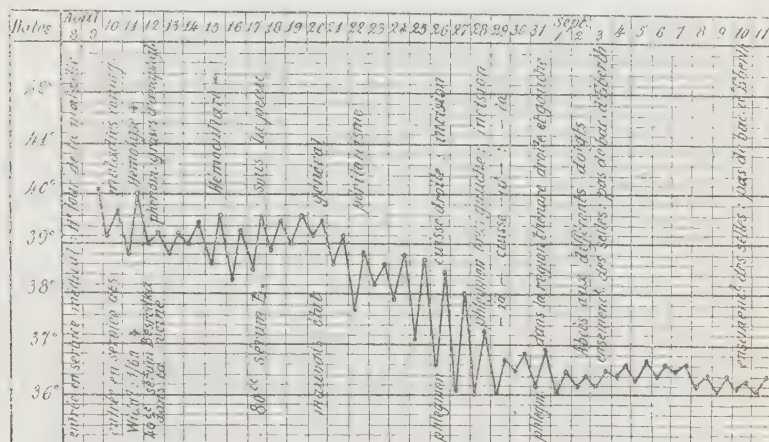
Le 9 octobre, le malade quitte le service complètement guéri, sans avoir eu de phénomènes sérieux.

Obs. VI. — F. M., soldat, 21^e regiment d'infanterie, entre le 10 août dans le service des maladies contagieuses; il avait contracté, douze jours avant, une forme excessivement grave de fièvre typhoïde : ataxo-adynergie, délire, double congestion pleuro-pulmonaire.

11 août. — Hémoculture positive; Widal positif 1/50.

12 août. — 40 cent. cubes de sérum Besredka dans la veine.

Cinq minutes après, le malade présente la symptomatologie complète de l'anaphylaxie expérimentale. Il commence par avoir des démangeaisons de la muqueuse nasale, sensation de sécheresse dans la gorge.



D'une pâleur mortelle, le malade devient très agité; on ne sent plus son pouls.

Deux minutes après, des quintes de toux, accompagnées de crachats albumineux, terminent l'accès qui avait duré, au total, à peu près huit minutes.

Dix minutes plus tard, le malade s'était complètement remis sans avoir eu un seul moment de phénomènes d'auscultations pulmonaire, qui dénotent une embolie.

La température du malade, qui avait baissé d'un degré, commence à remonter le 17, quand on lui injecte sous la peau 80 centimètres cubes de sérum.

22 août. — L'état général du malade va de mal en pis; un commencement d'embryocardie apparaît, accompagné de phénomènes de péritonisme qui ne durent que douze heures.

26 août. — Dès ce jour une vraie débâcle d'abcès stériles, disséminés partout, particulièrement aux extrémités digitales, apparaît; les abcès se suivent l'un après l'autre sans discontinuité. Le contenu de ces abcès complètement stérile est constitué exclusivement par des polynucléaires dégénérés.

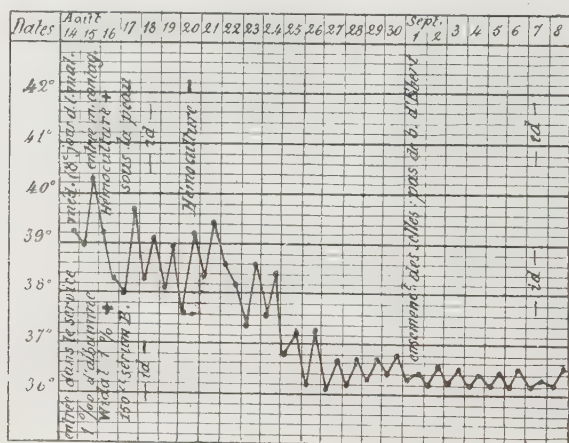
Dès qu'ils sont incisés, ils guérissent avec une rapidité remarquable. Nous rapprochons ce fait de la bactériolyse et la mise en liberté d'une grande quantité de toxine.

24 août. — Le malade quitte le service complètement guéri, sans autres complications.

Obs. VII. — M..., soldat, 10^e régiment d'artillerie, entre au service le 15 août. Il avait contracté sa maladie huit jours avant; il présentait à l'entrée une forme excessivement grave : ataxo-adynergie, double congestion pleurale, diérotisme assez accentué.

16 août. — Hémoculture positive; Widal positif.

17 et 18 août. — 150 cent. cubes de sérum Besredka sous la peau.



20 août. — Hémoculture négative.

1^{er} et 7 septembre. — Les examens des selles n'ont jamais montré de bacilles typhiques.

9 septembre. — Complètement guéri, le malade n'a pas eu de phénomènes sériques.

Obs. VIII. — S. M..., soldat, 5^e bataillon de pionniers, est alité le 18 août, dans le service des maladies contagieuses, ayant contracté neuf jours avant une fièvre typhoïde assez grave, forme ataxo-adynergique.

19 août. — Hémoculture positive; Widal 1 p. 100, positif.

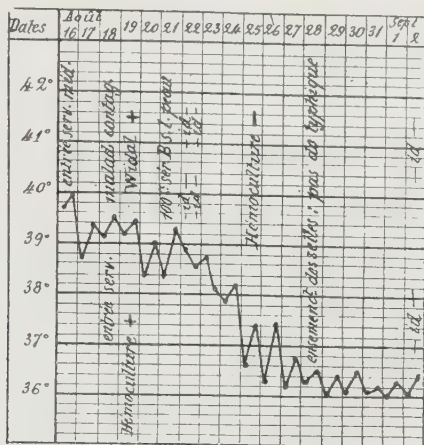
21 août. — 100 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.

22 août. — Le matin, 100 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau; le soir, 100 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.

L'abaissement de la température ainsi que l'amélioration de l'état général sont évidents.

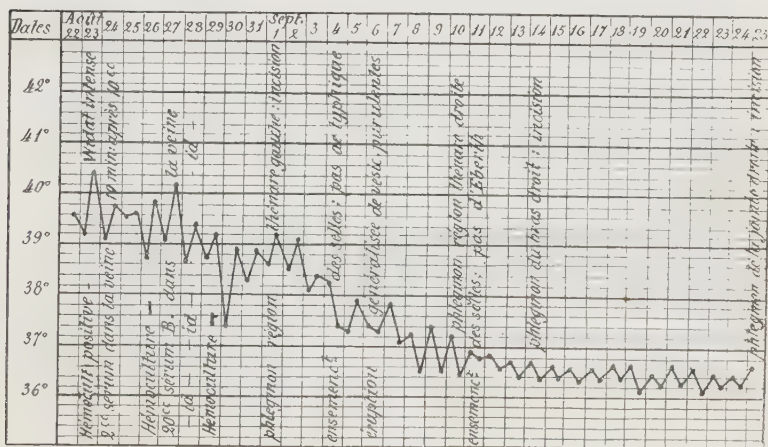
25 août. — Hémoculture négative.

28 août, 2 et 7 septembre. — Ensemencements des selles: pas de b. typhique.



9 septembre. — Le malade, complètement guéri, quitte le service sans avoir eu de phénomènes sériques.

Obs. IX. — C. N..., soldat, 2^e régiment d'artillerie, entre dans le service le 23 août; il avait contracté sa fièvre typhoïde neuf jours avant. — Forme très grave: ataxo-adynamie, délire, double congestion pleurale, microtisme.



23 août. — Hémoculture positive: Widal intense.

24 août. — L'état du malade étant très grave, et nous voyant dans la nécessité de lui faire une injection intraveineuse de sérum, nous avons procédé premièrement à la vaccination antianaphylactique. Dix minutes avant l'injection intraveineuse de 10 cent. cubes de sérum, nous avons introduit dans la veine une quantité de 2 cent. cubes du même sérum.

24 août. — 2 cent. cubes de sérum Besredka, dans la veine, dix minutes après, 10 cent. cubes de même sérum dans la veine.

26 août. — Hémoculture négative.

27 et 28 août. — 20 cent. cubes de sérum Besredka, dans la veine.

29 août. — Hémoculture négative.

30 août. — Amélioration de l'état général.

1^{er} septembre. — Une série ininterrompue d'abcès et de collections purulentes profondes suivie, après quelques jours, d'une vraie éruption de vésicules purulentes pemphigoides rappelle, dans tous ses détails, le cas de Fisoreanu (VI).

Le contenu stérile et la guérison rapide constituent les deux caractères essentiels.

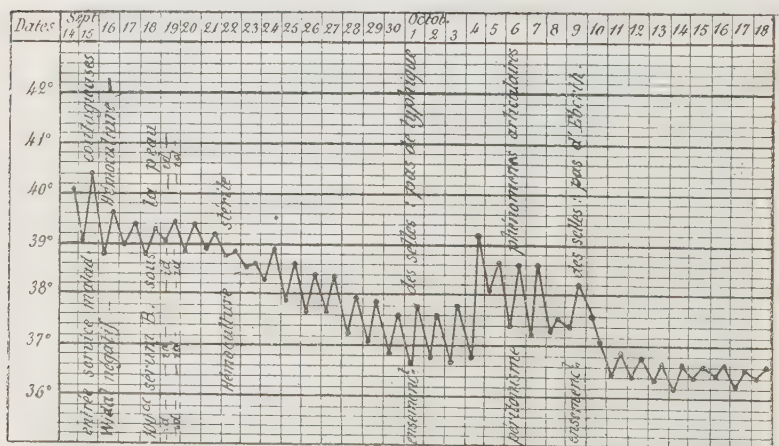
4, 11 septembre et 1^{er} octobre. — Lesensemencements des selles ne donnent pas le bacille d'Eberth.

4 octobre. — Le malade quitte le service complètement guéri, sans avoir eu des phénomènes sériques.

Obs. X. — D..., soldat, 5^e bataillon de pionniers, entre dans le service le 15 septembre, atteint d'une forme très grave de fièvre typhoïde (forme ataxo-dynamique).

16 septembre. — Hémoculture positive ; Widal négatif.

18 et 19 septembre. — Le matin et le soir, 100 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.



22 septembre. — Hémoculture négative.

4 octobre. — Le malade fait une rechute ; deux jours après apparaissent des phénomènes articulaires et du péritonisme, qui cèdent complètement après quatre jours.

1^{er}, 9 octobre et 3 novembre. — Lesensemencements des selles ne donnent pas le bacille d'Eberth.

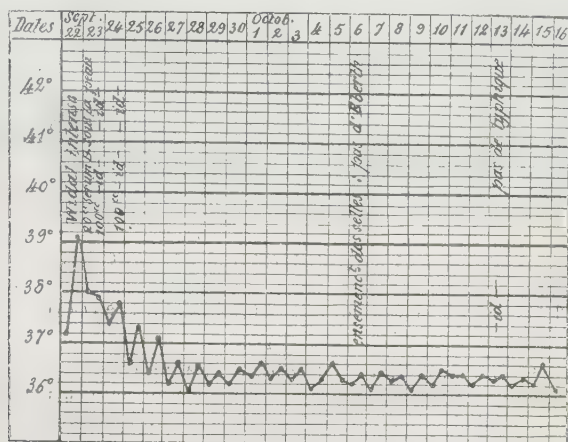
12 novembre. — Le malade quitte le service complètement guéri, sans avoir eu des phénomènes sériques.

Obs. XI. — T. D..., soldat, 21^e régiment d'infanterie, entre dans le service le 22 septembre, ayant contracté quinze jours avant, une fièvre typhoïde assez bénigne.

22 septembre. — Widal intense.

23 septembre. — Le matin, 20 cent. cubes et le soir 400 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.

24 septembre. — Le soir, 400 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.



On remarque l'action directe du sérum sur la température, ainsi que sur l'évolution de la maladie.

6 et 17 octobre. — Lesensemencements des selles ne donnent pas le bacille d'Eberth.

16 octobre. — Guérison complète, sans phénomènes sériques.

Obs. XII. — Gh. C..., soldat, 21^e régiment d'artillerie, entre dans le service des maladies contagieuses le 9 octobre. Il avait contracté, cinq jours avant, une forme de fièvre typhoïde très grave ataxo-adiynamique avec myocardite.

9 octobre. — Widal intense.

10 octobre soir. — Hémorragie intestinale (500 grammes), on y décèle le bacille typhique.

11 octobre. — Le matin et le soir 450 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.

12 octobre. — Le soir 450 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau.

Amélioration évidente de l'état général.

Ce cas est surtout intéressant par le fait qu'à cause de l'hémorragie et de la myocardite, le malade n'a été soumis qu'au traitement sérothérapique. De plus, c'est le seul cas avec bacilles dans les selles, ce qui met en évidence encore une fois l'action de ce traitement sur l'élimination des germes.

15 octobre. — Hémoculture négative.

15 juillet. — Hémoculture positive; Widal, 4 p. 100.

18 juillet. — Hémorragie intestinale (500 cent. cubes).

19 et 20 juillet. — 100 cent. cubes de sérum Besredka, sous la peau. Le soir, une nouvelle hémorragie.

22 juillet. — Phénomènes de péritonite. Gangrène sèche de la jambe gauche.

27 juillet. — Le malade succombe.

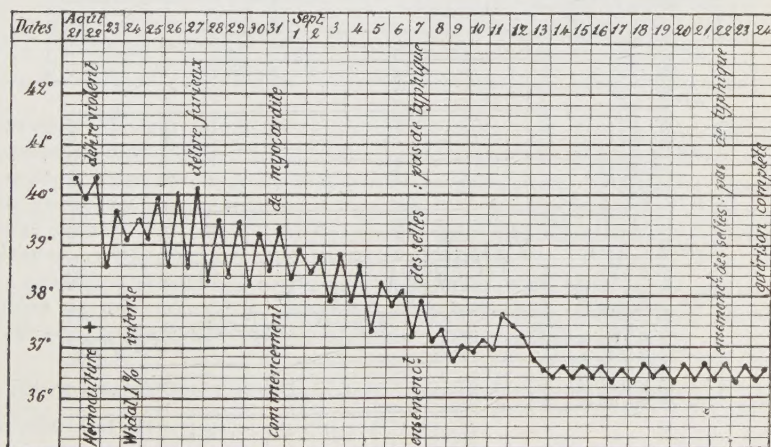
A l'autopsie, on n'a trouvé aucune perforation, même après avoir pratiqué l'épreuve de l'eau.

Rien du côté du péritoine; mais on put se rendre compte de l'intoxication profonde de l'organisme, d'après les lésions parenchymateuses suraiguës dans tous les organes.

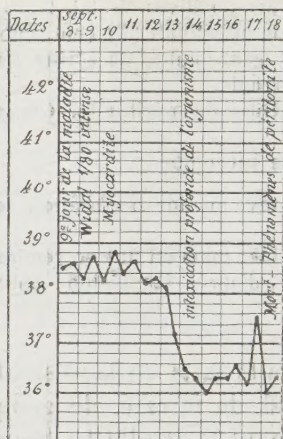
Lesensemencements faits de la vésicule biliaire, du sang, du contenu intestinal, de la rate, de ganglions mésentériques ont donné constamment le bacille typhique.

Comme observations de contrôle, nous rapportons les observations de deux malades qui n'ont été soumis qu'au traitement classique : bains froids, antiseptiques intestinaux, etc.

Obs. XIV. — Gh. C..., fièvre typhoïde, forme grave, délirante.

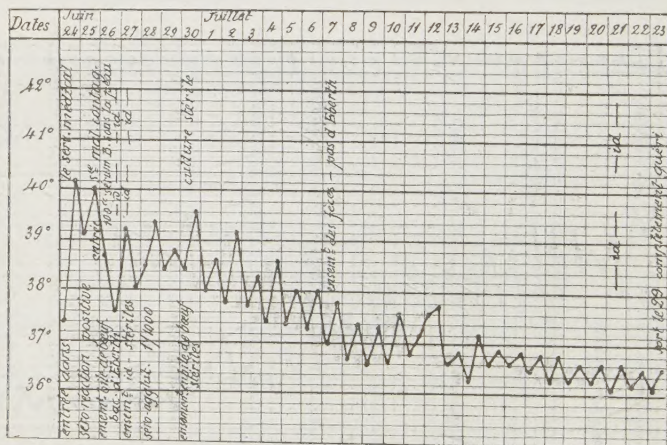


Obs. XV. — I. N..., fièvre typhoïde, forme excessivement grave : ataxo-adynamie, délire, intoxication profonde de l'organisme, le malade succombe; à l'autopsie, on ne décèle les bacilles d'Eberth que dans la vésicule biliaire.



OBS. XVI. — Sold. Nic. Vas., 6^e bataillon de chasseurs. Fièvre typhoïde - forme ataxo-adyynamique.

Malade depuis le 17 juin, on le fait entrer au service médical le 24. Le 25 au soir, le malade, évacué sur le service des maladies contagieuses, présente le tableau classique d'une infection typhique, forme ataxo-adyynamique : 40 degrés de fièvre, céphalalgies violentes; la langue très chargée et complètement



rôtie, la rate dépassant de 2 centimètres les fausses côtes. Lesensemencements, faits le 26 juin, nous donnent une culture pure de typhique, agglutinée, au premier passage même, par le sérum Besredka dilué à 1/100.000.

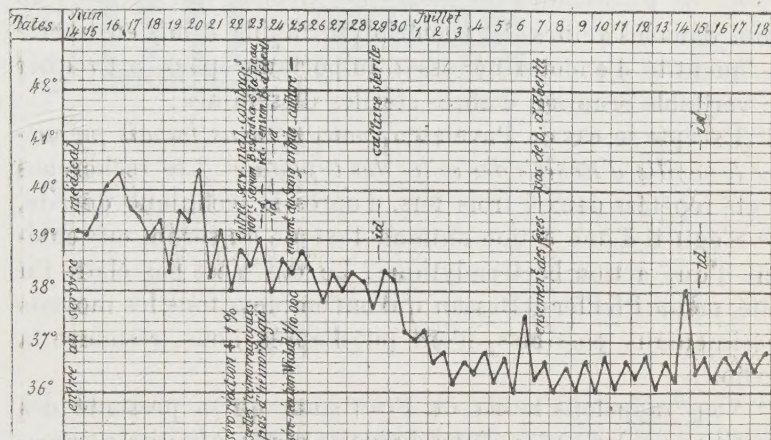
Le même jour, on lui fait deux injections de sérum de 100 cent. cubes. On répète lesensemencements du sang, le lendemain avant la troisième injection de sérum (100 cent. cubes). On obtient une culture stérile; même résultat

le 30 juin. Une amélioration évidente de l'état général après les injections, contrastait avec la persistance de la fièvre. Les selles,ensemencées le 7 et le 21 juillet sur des milieux à base de sels biliaires, ne nous ont plus permis d'isoler le bacille typhique.

Le malade a été soumis en même temps au traitement avec des bains froids; de la glace sur la région précordiale, des boissons en quantité, etc.

OBS. XVII. — Sold. Bulgaru Gh., 22^e régiment d'infanterie. Fièvre typhoïde, forme hémorragique.

Entré au service le 14 juin; il serait malade depuis dix jours. Le soir du 22 juin, une forte hémorragie intestinale; on l'envoie au service complètement adynamique, avec des céphalalgies violentes, saignements de nez, rate grosse, éruption de taches surtout du côté de l'hypocondre gauche.



L'examen du sang, fait le même jour, nous donne, trente-six heures après, une culture pure d'Eberth agglutinée, par le sérum Besredka diluée à 1/80.000. Les deux premières injections de sérum ont fait cesser l'hémorragie; nous avons observé également la disparition des taches. Deuxensemencements de sang, répétés le 25 et le 29, ont donné des cultures stériles. Nous n'avons pu isoler une seule fois le bacille typhique des selles.

A cause de l'hémorragie intestinale, le malade n'étant pas soumis au traitement de bains, on ne lui a donné que des boissons à l'intérieur, de la glace sur la région précordiale, des lotions rafraichissantes.

Ces observations comportent une série de conclusions qui méritent d'être prises en considération :

1^o Si, dans presque la totalité des cas, nous n'avons pas remarqué d'action directe du sérum sur la marche de la température, le fait de l'amélioration évidente de l'état général n'a manqué que dans un seul cas (Pavelescu);

2^o Il faut tenir compte que nos cas ont été choisis parmi les

plus graves et que, excepté celui de Pavelescu, nous n'avons pas eu cependant de cas mortels ;

3° Un fait intéressant à noter, et sur lequel nous attirons spécialement l'attention, c'est l'impossibilité d'obtenir une seule fois l'hémoculture positive, même vingt-quatre heures après l'injection sous-cutanée de sérum. Le fait est plus évident encore lorsque l'injection de sérum est faite dans la veine. Le phénomène de la disparition des bacilles de la circulation tient certainement à la bactériolyse intense qui suit l'injection du sérum ;

4° Ce phénomène de bactériolyse est confirmé dans les observations de Fisoreanu et Constantin Nicolae, qui ont reçu du sérum dans les veines. La bactériolyse rapide a mis en liberté une quantité d'endotoxine assez importante pour provoquer une véritable éruption d'abcès stériles disséminés ;

5° Excepté le cas de Pavelescu, *nous n'avons jamais pu cultiver le bacille d'Eberth des selles des typhiques*. Les recherches ont été répétées deux à trois fois, d'après la technique décrite.

6° S'agit-il d'une action antiendotoxique du sérum ou seulement d'une action bactériolytique ? Le fait n'est pas clair. En vérité, même Pfeiffer et Bessau, qui ont employé tous les moyens expérimentaux possibles, n'ont pu, d'après nous, résoudre la question ;

7° Nous rappelons le cas de Fisoreanu, qui a présenté des phénomènes classiques d'anaphylaxie, après une seule injection intraveineuse de sérum ;

8° Le cas de Constantin Nicolae, qui a été soumis préalablement à l'injection antianaphylactique, d'après le procédé de Besredka, montre encore une fois les avantages de cette méthode de vaccination.

CONCLUSION GÉNÉRALE.

La constance des résultats obtenus dans ce petit nombre de cas, permet de tirer quelques observations générales sur la valeur du traitement sérothérapique. S'il n'était que ce fait, régulièrement constaté dans toutes les observations, concernant la disparition des germes des selles des typhiques, la sérothérapie trouverait sa justification dans ce que la question des porteurs de germes est de la sorte en partie résolue.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.